

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Katedra antropologie a genetiky člověka



BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Genetické rizikové faktory systémových autoimunitních onemocnění

Genetic risk factors of system autoimmune diseases

Adéla Bičíková

Školitelka: RNDr. Pavlína Čejková, Ph.D.

Praha 2012

Chtěla bych tímto poděkovat školitelce své bakalářské práce RNDr. Pavlíně Čejkové, Ph.D. za pečlivé vedení a čas věnovaný opravě práce, vstřícný přístup při zodpovídání dotazů a cenné rady. Dále děkuji své rodině a příteli za trpělivost a podporu během dosavadního studia.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci „Genetické rizikové faktory systémových autoimunitních onemocnění“ vypracovala samostatně pod vedením RNDr. Pavlíny Čejkové, Ph.D. a s použitím citované literatury.

V Praze dne

Adéla Bičíková

Obsah

Abstrakt.....	4
1 Úvod.....	5
2 Autoimunitní procesy a autoimunitní onemocnění.....	6
2.1 Genetika autoimunitních chorob.....	7
2.2 Epigenetika v autoimunitě.....	8
3 Hlavní histokompatibilní systém (MHC).....	9
3.1 Struktura MHC glykoproteinů.....	9
3.2 Funkce MHC glykoproteinů.....	10
3.3 Polymorfismus HLA molekul.....	11
3.4 Vazebná nerovnováha (linkage disequilibrium, LD).....	12
4 Kandidátní geny autoimunitních onemocnění.....	13
4.1 HLA genetické rizikové faktory.....	13
4.1.1 Asociace HLA oblasti I. třídy s autoimunitními onemocněními.....	13
4.1.2 Asociace HLA oblasti III. třídy s autoimunitními chorobami.....	13
4.1.3 Asociace HLA oblasti II. třídy s autoimunitními chorobami.....	13
4.1.4 HLA-DRB a HLA-DQB.....	14
4.1.5 TNF.....	15
4.1.6 Složky komplementu.....	16
4.1.7 TAP.....	16
4.2 Non-HLA genetické rizikové faktory.....	17
4.2.1 <i>PTPN22</i>	18
4.2.2 <i>STAT4</i>	19
4.2.3 <i>TNFAIP3</i>	20
4.2.4 <i>IRF5</i>	21
4.2.5 <i>TNFSF4 a TNFRSF4</i>	21
4.2.6 <i>BANK1</i>	22
4.2.7 <i>BLK</i>	23
4.2.8 <i>CTLA4</i>	23
4.2.9 Fcγ receptory.....	24
4.2.10 <i>FAS</i>	25
4.2.11 Specifické non-HLA genetické rizikové faktory.....	26
5 Závěr.....	29
6 Použitá literatura.....	31

Abstrakt

Jednou z charakteristických vlastností systémových autoimunitních onemocnění je produkce autoprotilátek proti vlastním antigenům. Genetická predispozice je nesena HLA geny II. třídy *DRB* a *DQB*, které však tvoří pouze okolo 40 % rizika. V posledních několika dekádách zaznamenal výzkum dalších genetických rizikových faktorů velký pokrok. Existuje nespočet predispozičních genů, jež jsou systémovými chorobami sdílené. Sem patří např. geny *PTPN22*, *STAT4*, *IRF5*, *TNFAIP3*, *TNFSF4*, *BANK1*, *BLK*, *CTLA4*, geny pro Fcγ receptory, FAS a další. Jejich přítomnost nasvědčuje existenci stejných či podobných mechanismů zapojených v patogenezi těchto autoimunitních chorob. A naopak, mnoho genetických faktorů predisponujících k rozvoji nemoci je specifických pro jednotlivá systémová onemocnění. Často kódují proteiny zapojené ve fungování imunitního systému, ať už to jsou geny, jejichž funkce má za následek produkci autoantigenů (*PADI4* a *TREX1*), či zodpovídá za selhání selekce autoreaktivních T lymfocytů v brzlíku (např. *PTPN22*), prezentace antigenu CD4⁺ T buňkám nebo způsobí aktivaci autoreaktivních B buněk (*BANK1*, *IRF5*, *BLK*).

Klíčová slova: autoimunita, systémový, gen, asociace

Abstract

One of the characteristics of systemic autoimmune diseases is the production of autoantibodies against self antigens. Genetic predisposition is supported by the HLA class II *DQB* and *DRB* genes, which constitute only about 40% of the risk. In the last few decades the search of other genetic risk factors noted major progress. There are many genetic risk factors that are shared by systemic disorders. These include genes such as *PTPN22*, *STAT4*, *IRF5*, *TNFAIP3*, *TNFSF4*, *BANK1*, *BLK*, *CTLA4*, genes coding for Fcγ receptors, FAS and others. Their presence suggests the existence of identical or similar mechanisms involved in the pathogenesis of autoimmune diseases. Conversely, many genetic factors predisposing to the development of the disease are specific to single system disorders. These genes often encode proteins involved in the functioning of the immune system, whether they are genes whose function has resulted in production of autoantigens (*PADI4* and *TREX1*), or are responsible for the failure in selection of autoreactive T cells in the thymus (*PTPN22*), for antigen presentation to CD4⁺ T cells or cause the activation of autoreactive B cells (*BANK1*, *IRF5*, *BLK*).

Key words: autoimmunity, system, gene, association

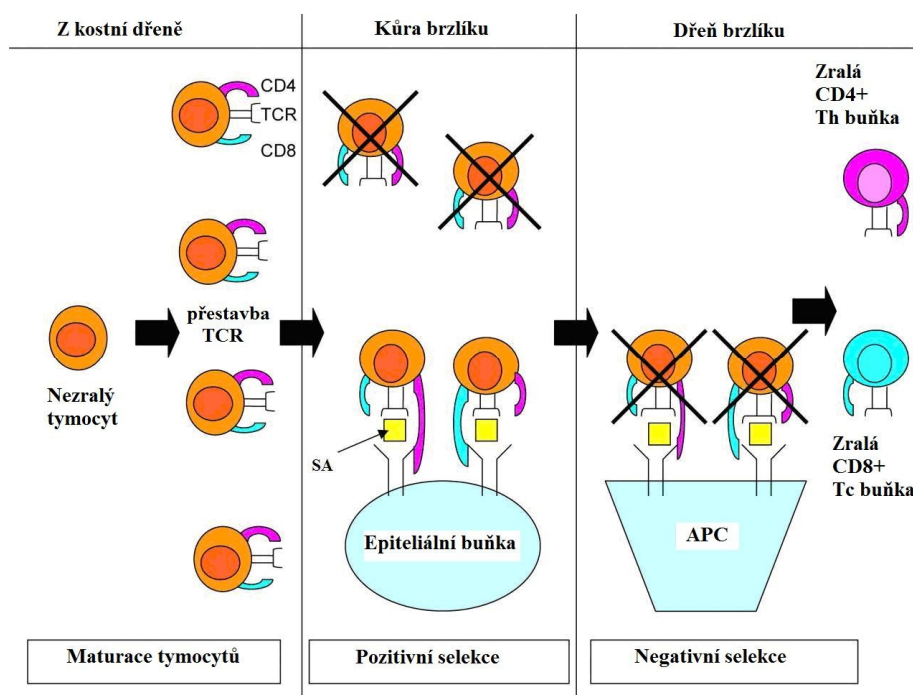
1 Úvod

Autoimunitní onemocnění jsou multifaktoriální, polygenní onemocnění, kterými trpí přibližně 5 % lidské populace. Důvodem vzniku autoimunitních chorob je poškození mechanismů tolerance k buňkám vlastního těla. Typickým rysem systémových autoimunitních chorob je zapojení a interaktivní role protilátek, imunitních komplexů a rozpustných mediátorů buněčné komunikace (např. interleukinů, chemokinů a růstových faktorů) do tkáňového poškození nejrůznějších orgánů (Toussiot a kol. 2010). Velkým problémem ve zkoumání a porozumění autoimunitních chorob je nedokonalé zmapování genetických a enviromentálních rizikových faktorů. Systémová autoimunitní onemocnění mají kromě specifických predisponujících faktorů i některé faktory společné, například HLA molekuly. Důležitou roli v patogenezi autoimunitních onemocnění však hrají i non-HLA rizikové faktory, především intracelulární signalizační molekuly (např. PTPN22), mnoho molekul z rodiny TNF (tumor necrosis factor), molekuly signalizační dráhy NF- κ B, signalizační molekuly asociované s B lymfocyty (BANK1 a BLK), transkripční faktory (IRF5, STAT4), cytokiny a jejich receptory a kostimulační molekuly (CTLA4).

Tato práce shrnuje genetické rizikové faktory typické pro systémový lupus erythematosus, revmatoidní artritidu a systémovou sklerózu. Důraz je kladen na vysvětlení, jak daný predisponující faktor poškodí imunitní dráhy a způsobí selhání tolerance.

2 Autoimunitní procesy a autoimunitní onemocnění

Pro normální imunitní odpověď je potřebná tolerance k buňkám vlastního těla, ztráta této tolerance může vést až k autoimunitní reakci. Rozpoznávání antigenů vlastního těla je důležité pro udržení homeostaze. Dochází k rozpoznávání starých, poškozených či jinak pozměněných buněk, které jsou odstraňovány. Centrální tolerance je dosažena ve dvou procesech (Obr. 1). Nezralé T lymfocyty opouštějící kostní dřeň tvoří na svém povrchu T buněčné receptory (TCR). TCR vznikají náhodným přeskupováním rozmanitých genových segmentů. Takto mohou rozeznávat širokou paletu nejen rozličných cizích antigenů, ale také antigeny vlastní. První proces je pozitivní selekce T buněk (dochází k interakci naivních $CD4^+$ a $CD8^+$ T lymfocytů s MHC glykoproteiny na kortikálních epiteliálních buňkách brzlíku). T buňky, jejichž TCR mají nízkou afinitu pro MHC molekuly, neobdrží ochranný signál a jsou odstraněny (Ziegler a kol. 2009). Druhým procesem je negativní selekce, při které antigen prezentující buňky (antigen presenting cell, APC) reagují s tymocyty. T lymfocyty, které s přílišnou afinitou váží vlastní antigeny prezentované MHC molekulami APC, jsou odstraňovány (Zerrahn a kol. 1997). T buňky specifické pro nejrůznější antigeny, nabízené vlastními MHC molekulami, se mohou vyvinout v $CD4^+$ nebo $CD8^+$ buňky a jsou vypuštěny do periferie. Ne všechny antigeny tělu vlastní jsou však exprimovány v brzlíku, proto existují regulační T lymfocyty (Treg). Treg potlačí díky kostimulačním molekulám (CD28 a CTLA4) aktivaci a funkci autoreaktivních T buněk, které v periférii mohou reagovat na antigeny tělu vlastní (neexprimované v brzlíku). Tímto způsobem je udržována periferní tolerance.



Obr. 1: Schéma centrální tolerance. SA= self antigen (antigen tělu vlastní)
upraveno podle Simmonds a Gough 2005

Existuje jak humorální, tak buněčná autoimunitní odpověď. V prvním případě dochází k tvorbě autoprotilátek, které mohou tvořit a ukládat imunokomplexy do tkání, popřípadě jsou známé i jiné mechanismy. Za druhé dochází k zánětu vyvolanému pomocnými a cytotoxickými T buňkami a jejich cytotoxickými produkty. Mechanismus selhání tolerance k buňkám vlastního těla není kompletně pochopený. Na náchylnosti k autoimunitním onemocněním (AO) se podílí mnohotné rizikové faktory nejen genetické, ale i epigenetické.

Podmínkou vzniku AO je selhání autotolerance. AO trpí přibližně 5 % populace (Javierre a kol. 2011). Můžeme je rozdělit na onemocnění systémová a orgánově specifická, která vedou převážně k postižení jednoho orgánu a nejsou předmětem této práce. Systémová AO jsou taková, jejichž společným rysem je zapojení a interaktivní role protilátek, imunitních komplexů a rozpustných mediátorů buněčné komunikace (např. interleukinů, chemokinů a růstových faktorů) do tkáňového poškození nejruznějších orgánů (Toussiot a kol. 2010).

Systémový lupus erythematosus (SLE) je systémové zánětlivé AO charakterizované ztrátou tolerance k vlastním antigenům a produkcí vysokých titrů autoprotilátek proti nativní DNA a dalším buněčným složkám (Ramos a kol. 2010). Primárně jsou postižovány ženy v plodném věku a obecná prevalence kolísá okolo 500 případů na 100 000 (Česká revmatologická společnost dostupné z <http://www.revmatologicka-spolecnost.cz>).

Revmatoidní artritida (RA) je AO charakterizované chronickým zánětem synoviálních kloubů a tvorbou protilátek proti revmatoidnímu faktoru (RF) a citrulinovaným peptidům (CCP). Většinou jsou poškozeny malé klouby rukou a nohou, ačkoliv může dojít k napadení i větších kloubů, například kolenního a ramenního. Ke dni 31. 5.2011 bylo v databázi České revmatologické společnosti 1771 záznamů pacientů s tímto onemocněním (Registr České revmatologické společnosti dostupné z <http://attra.registry.cz/>).

Systémová skleróza (SSc) nebo také sklerodermie je celkové onemocnění pojivové tkáně s heterogenními projevy, které není zcela objasněné a dotýká se mnoha orgánů. V patofyziologii sklerodermie můžeme rozlišit tři poruchy: dysfunkci fibroblastů vedoucí ke zvýšenému uložení extracelulární matrix, cévní anomálie vedoucí k tkáňové hypoxii a imunitní reakce, projevující se změnami funkce T a B lymfocytů a produkcí protilátek (antinucleární, proti topoizomeráze I, anticentromerové protilátky) (Gomez a kol 2011). Jedná se o vzácné onemocnění, proto jsou výzkumy omezené na studie s malým počtem případů.

2.1 Genetika autoimunitních chorob

AO jsou multifaktoriální, polygenní choroby. V patogenezi se setkávají jak genetické, tak negenetické vlivy, které spolu interagují. Na vnímavosti se podílí více genů, avšak žádný sám o sobě není za chorobu výhradně zodpovědný a pro vznik onemocnění nezbytný a postačující, účinky genu jsou aditivní. O účasti genetických faktorů na rozvoji AO svědčí poměrně vysoká konkordance výskytu chorob u jednovaječných dvojčat, která se pohybuje u různých onemocnění okolo 25-70 %.

Genetický polymorfismus je dědičná změna v DNA sekvenci, která přispívá k fenotypové odlišnosti a někdy také k náchylnosti k chorobám, protože má dopad na genovou expresi a funkci. Polymorfismus se na rozdíl od mutace může vyskytovat ve více variantách, z nichž nejméně častá má populační frekvenci alespoň 1 %. Polymorfismus může vznikat bodovými mutacemi v DNA, tento typ bývá označován jako SNP (single nucleotide polymorphism), určité formy SNP jsou spojované s multifaktoriálními chorobami. Dále může polymorfismus vzniknout zmnožením úseků nukleotidů, kdy vznikají repetitivní sekvence, které se v rámci populace liší délkou danou počtem opakování.

Obecně je velmi důležité identifikovat genetické polymorfismy predisponující k rozvoji AO, které jsou vodítky k pochopení mechanismů patogeneze. Mnoho AO rizikové faktory sdílí, což se týká především HLA haplotypů. Mezi další společné rizikové faktory patří intracelulární signalizační molekuly (např. PTPN22), mnoho molekul z rodiny TNF (tumor necrosis factor), molekuly NF- κ B signalizační dráhy, signalizační molekuly asociované s B lymfocyty (BANK1 a Blk), transkripční faktory (IRF5, STAT4), cytokiny a jejich receptory a kostimulační molekuly (CTLA4). Některé z objevených a popsáných polymorfismů konkrétních genů budou popsány níže, stejně tak jejich dopad na rozvoj AO.

2.2 Epigenetika v autoimunitě

Oproti genetickým změnám epigenetické změny jsou definovány jako dědičné změny v genové expresi, které nevyžadují změnu v DNA sekvenci. Prostřednictvím modifikací v chromatinové struktuře, která moduluje genovou expresi, tyto změny hrají velmi důležitou roli v eukaryotické genové regulaci (Kolárik a kol. 2009).

N terminální region histonů vyčnívá z nukleosomu a může být posttranslačně modifikován, což je důležité nejen pro sbalování chromatinu, ale také pro genovou regulaci (Allfrey a kol. 1964). Nejdůležitějšími změnami histonů jsou acetylace a deacetylace. Tento proces se týká lysinů v histonových „ocáscích“ a přenosem acetylové skupiny na lysin acetyltransferázou dochází k podpoře genové exprese, kdežto deacetyláza odstraní acetylovou skupinu a dochází ke genové represi (Hong a kol. 1993). Další důležité změny zahrnují metylace histonů, které závisí především na poloze a počtu metylovaných lysinů či argininů (Barski a kol. 2007).

DNA metylace postihuje především cytosin v pozici C5, který je tak přeměněn na 5-metylcytosin. Metylace oblastí dinukleotidů CpG je spojena s inaktivací genů, buď metylace brání vazbě transkripčních faktorů, nebo umožňuje vazbu inhibičních komplexů.

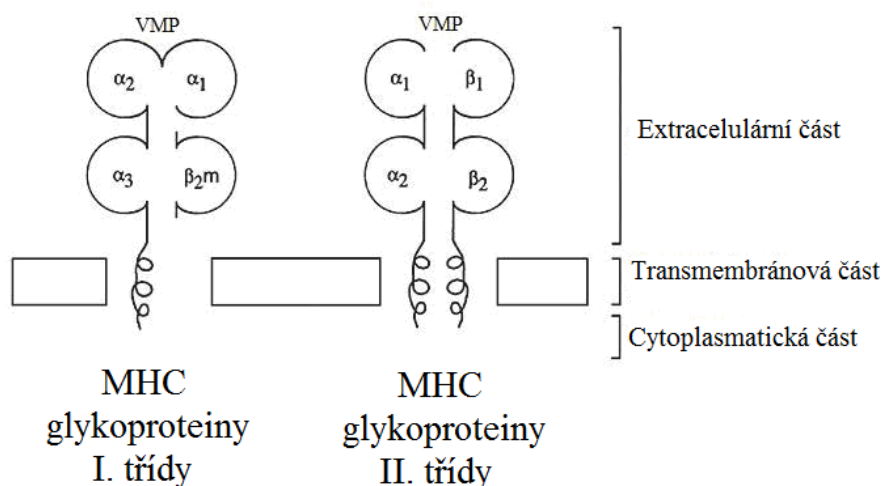
Poškození epigenetické regulace v buňkách imunitního systému může být odpovědné za selhání tolerance k vlastním buňkám skrz hypometylací nebo zapojení transkripčních represorů. Změny v epigenomu mohou vést k autoreaktivitě T buněčných klonů a způsobovat autoimunitní choroby (Chitnis a kol. 2000).

3 Hlavní histokompatibilní systém (MHC)

Hlavní histokompatibilní systém (major histocompatibility complex, MHC), u lidí známý jako oblast lidského leukocytárního antigenu (HLA), je komplex genů nacházejících se na krátkém raménku chromosomu 6 (6p21.3), které dohromady zabírají 7,5 miliónů bází (Mb) a obsahují více než 200 genů (Aquado a kol. 1999, de Bakker a kol. 2006). HLA oblast kóduje mnoho molekul, které mají úlohu v imunitním systému, byla nalezena velmi silná asociace regionu s AO. MHC je charakterizován vysokou genovou hustotou, vysokým polymorfismem, vysokou vazebnou nerovnováhou a hraje klíčovou roli v adaptivním i vrozeném imunitním systému (Mungall a kol. 2003). Oblast můžeme rozdělit na „neklasickou“ třídu I, klasickou třídu I, klasickou třídu III, klasickou třídu II a „neklasickou“ třídu II (Gough a Simmonds 2007). Produkty genů v této oblasti jsou zodpovědné za navázání peptidových fragmentů buď intracelulárního původu (lokusy I. třídy, včetně HLA-A, -B a -C) nebo extracelulárního původu (v případě třídy II., včetně DRB1, DQB1 a DPB1) (Meyer a kol. 2006). Takto navázané peptidy jsou vystaveny na buněčném povrchu a stimulují cytotoxické T lymfocyty (molekuly I. třídy) nebo pomocné T lymfocyty (molekuly II. třídy). MHC III. třídy obsahují geny, které sice mají imunologickou funkci, ale nepodílejí se na prezentaci antigenu.

3.1 Struktura MHC glykoproteinů

MHC glykoproteiny I. třídy jsou přítomny na všech jaderných buňkách a skládají se z α řetězce (molekulární hmotnost 45 kD) zakotveného v buněčné membráně, k němu se nekovalentně váže β_2 -mikroglobulin (12 kD), který není v buněčné membráně zakotven. α_1 a α_2 N-terminální domény vytvářejí vazebné místo pro peptidy (Obr. 2). Třetí doména α_3 (transmembránová) a β_2 -mikroglobulin jsou strukturálně velmi podobné imunoglobulinovým doménám.

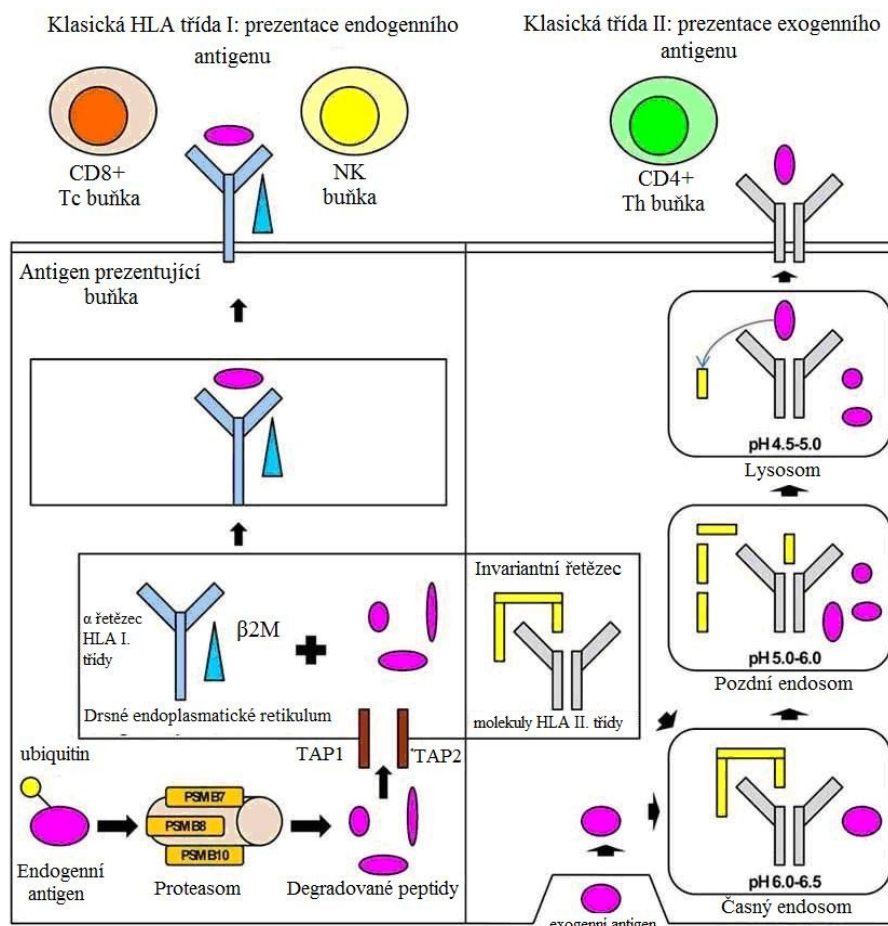


Obr. 2: Struktura MHC molekul I. a II. třídy. VMP= vazebné místo peptidu.
převzato a upraveno podle www.annualreviews.org

Oproti tomu MHC glykoproteiny II. třídy jsou přítomné za normálních okolností pouze na APC, jako jsou monocyty, makrofágy, dendritické buňky (dendritic cell, DC) a B buňky. Skládají se ze dvou transmembránových podjednotek α a β (molekulární hmotnost okolo 30 kD), které jsou nekovalentně asociované. N terminální domény α_1 a β_1 tvoří vazebné místo pro peptidy a α_2 a β_2 jsou transmembránové domény.

3.2 Funkce MHC glykoproteinů

Endogenní antigen vytvořený v cytosolu je degradován v proteasomu a transportován do drsného endoplasmatického retikula (RER) s pomocí komplexu TAP1/TAP2 (Gough a Simmonds 2007). Všechny domény MHC glykoproteinů I. třídy jsou syntetizovány v RER a zde je skrz α_1 a α_2 domény navázán antigen. Celý komplex s navázaným peptidem je transportován na buněčný povrch, kde dochází k rozpoznání $CD8^+$ T buňkami a NK buňkami.



Obr. 3: Prezentace endogenního a exogenního peptidu MHC glykoproteidy
Upraveno podle Gough and Simmonds 2007

Exogenní antigen se endocytózou dopraví přes časný endosom, pozdní endosom až do lysosomu, kde je degradován (Obr. 3). Mezitím dochází v RER k syntéze domén α a β HLA II. třídy, na které se naváže invariantní řetězec (aby se zabránilo vazbě endogenního peptidu). Komplex MHC glykoprotein II. třídy/invariantní řetězec je transportován skrz endocytickou dráhu a ve vzrůstajícím

kyselém prostředí dochází k rozštěpení invariantního řetězce a na jeho místo se naváže degradovaný peptid. Komplex s navázaným peptidem je exportován na buněčný povrch, kde je rozpoznáván CD4⁺ pomocnými T buňkami.

Oblast MHC III. třídy leží mezi MHC třídou I a II Produkty genů MHC III. třídy se nepodílí na prezentaci antigenu, ale tyto geny determinují molekuly mající jiné imunologické funkce, především složky komplementu (C2, C4 a CFB), heat shock protein 70 (hsp 70) a geny pro TNF (Qin a kol. 2008). Oblast kóduje i další geny, které nehrají roli v imunitním systému (CYP21 atd.) a samozřejmě mnoho pseudogenů a genů, které jsou exprimovány, ale doposud není známa jejich funkce.

3.3 Polymorfismus HLA molekul

Jak již bylo zmíněno, HLA oblast lidského genomu je velmi polymorfní. V populaci existují od desítek po tisíce alelických forem. V lednu 2012 bylo například známo 1757 alel HLA-A, 2338 HLA-B, 1304 HLA-C, 1166 HLA-DRB, 41 HLA-DQA1, 162 HLA-DQB1, 33 HLA-DPA1 a 152 alel HLA-DPB1 (European Bioinformatics Institute dostupné z <http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/stats.html>). Další příklady počtů alelických forem jsou uvedeny v Tab. 1 V jednotlivých populacích se samozřejmě nevyskytují všechny tyto alely. Přesto je míra polymorfismu nebývalá a má praktický význam pro orgánové transplantace, soudní lékařství.

Tab. 1: Zastoupení alel jednotlivých genů HLA systému.

Počet HLA alel										
Alely HLA I třídy										5518
Alely HLA II třídy										1612
HLA alely										7130
Další non-HLA alely										139
HLA I třídy										
gen	A	B	C	E	F	G				
alely	1757	2338	1304	10	22	47				
proteiny	1290	1795	946	3	4	15				
HLA II třídy										
gen	DRA	DRB	DQA1	DQB1	DPA1	DPB1	DMA	DMB	DOA	DOB
alely	7	1166	47	162	33	152	7	13	12	13
proteiny	2	873	29	113	16	131	4	7	3	5
HLA II třídy- DRB alely										
gen	DRB1	DRB2	DRB3	DRB4	DRB5	DRB6	DRB7	DRB8	DRB9	
alely	1067	1	57	15	19	3	2	1	1	
proteiny	803	0	46	8	16	0	0	0	0	
Další non-HLA geny										
gen	MICA	MICB	TAP1	TAP2						
alely	80	33	12	12						
proteiny	63	22	6	5						

Převzato a upraveno podle <http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/stats.html>

Polymorfismy se nejčastěji nacházejí v oblastech vázajících antigen. Variabilita mezi alelami je převážně lokalizovaná v exonech 2 a 3 u HLA I. třídy a v exonu 2 u HLA-DRB, DQA, DQB, DPA a DPB (Beck a Trowsdale 2000). Nesynonymní jednonukleotidové substituce (SNP) vedou k aminokyselinovým záměnám v doménách zapojených ve vazbě antigenních peptidů (Bade-Döding a kol. 2011). To znamená, že polymorfismy rozhodují o repertoáru peptidů prezentovaných na alelických formách HLA. Dalším zdrojem variability na DNA úrovni je kombinace α a β řetězců molekul HLA II. z odlišných haplotypů.

Obecně se věří, že některé typy patogenem řízené selekce jsou zodpovědné za vysoký polymorfismus MHC genů (Ujvari a Belov 2011). Jednotlivé alelické formy prezentují odlišné složení peptidů, což znamená, že polymorfismus zvyšuje pravděpodobnost, že se v populaci najde individuum, které se při setkání s novým patogenem proti němu úspěšně ubrání. To polymorfismus činí, z evolučního hlediska, velice výhodným.

3.4 Vazebná nerovnováha

Vazebná nerovnováha (linkage disequilibrium, LD) se týká faktu, že konkrétní alely v blízkých místech se mohou vyskytovat ve stejných haplotypech mnohem častěji, než je očekáváno náhodou (Goldstein 2001).

Pro pochopení asociací mezi geny a AO je velmi důležité mapování SNP. Z 90 % tvoří polymorfismus u člověka právě SNP, které jsou katalogizované ve veřejné databázi SNP (databáze SNP dostupné z www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/index.html). SNP se sdružují do bloků, tzv. haplotypů, které jsou zpravidla segregovány jako celek. Tyto bloky většinou podléhají velmi málo rekombinaci, a pokud mají vysokou vazebnou nerovnováhu a nízkou diverzitu haplotypu (tzv. haplotypové bloky), stačí identifikovat jen několik „markerů“, které zastupují daný haplotyp a případně mapováním zjistit rizikové haplotypy. Bakker a kol. prozkoumali asociaci mezi HLA typy a SNP napříč celou HLA oblastí (de Bakker a kol. 2006).

HLA polymorfismus a jeho vazebná nerovnováha jsou cenné také pro antropology a epidemiology, kteří mohou charakterizovat populaci, rozpoznat původ a sestavit jejich genetickou historii (Dausset 1981).

4 Kandidátní geny autoimunitních onemocnění

4.1 HLA genetické rizikové faktory

Hlavní histokompatibilní systém (MHC) je jeden z nejvíce studovaných lokusů lidského genomu, kvůli přispění mnohých variant v této oblasti k autoimunitním poruchám, infekci, zánětlivým chorobám a transplantaci. Přesný mechanismus asociace MHC s AO není znám, ale existuje několik hypotéz, které se snaží asociaci vysvětlit. MHC rizikové alely jsou běžné i u lidí bez AO, což znamená, že do spuštění choroby je potřeba přispění dalších genů a okolního prostředí (multifaktoriální dědičnost). V žádném případě nejsou pouze HLA alely dostačující pro rozvinutí choroby (Beck a Trowsdale 2000).

4.1.1 Asociace HLA oblasti I. třídy s autoimunitními onemocněními

HLA molekuly I. třídy se účastní prezentování endogenních antigenů pocházejících především z virů a bakterií, které se zdají být klíčovými environmentálními spínači AO. Pokud je mikrobiální antigen dostatečně podobný antigenu vlastního těla, může aktivovat autoreaktivní T lymfocyty a skrz ně spustit autoimunitu (Misko a kol. 1999). Tomuto jevu se říká molekulární mimikry.

Pokud se mikrobiální antigen projevuje jako superantigen, produkuje silnou nespecifickou imunitní odpověď, která vede až k napadání dalších tkání v těle (Möller 1998).

4.1.2 Asociace HLA oblasti III. třídy s autoimunitními chorobami

Oblast MHC III. třídy obsahuje geny kódující molekuly s imunologickými funkcemi, především složky komplementu (C2, C4 a CFB), heat shock protein 70 (hsp 70) a geny pro TNF, kterému bude věnováno více prostoru v podkapitole 4.1.5.

Za normálního stavu je nadbytek antigenu prezentován v těle. Po vyvolání imunitní odpovědi protilátky se váží na antigeny a tvoří imunokomplexy, které zahájí aktivaci komplementu. Ta má za následek degranulaci mastocytů, nalákání neutrofilů a jiných fagocytujících buněk, které odstraní a zničí antigeny uvězněné v imunokomplexech. V některých případech fagocytické buňky nemohou tak snadno vyčistit imunokomplexy, které jsou následně ukládány a hromadí se na specifických místech (Simmonds a Gough 2005). Neutrofily nalákané do míst uložení komplexů degranulují a způsobují poškození tkání. Deficience molekul komplementu jsou asociovány s rozvojem AO.

4.1.3 Asociace HLA oblasti II. třídy s autoimunitními chorobami

HLA oblast II. třídy obsahuje geny kódující α a β řetězce glykoproteinů a další geny, jejichž produkty se účastní imunitních dějů, např. gen *TAP*, jemuž bude věnována kapitola 4.1.7.

Nejvíce je asociace s AO spojována s *HLA-DR/DQ* geny, které kódují α_1 a β_1 řetězce zodpovědné za vytvoření žlábků pro vazbu exogenních peptidů. Ty jsou na povrchu prezentovány $CD4^+$ Th lymfocytům. Žlábek, který váže peptid, obsahuje dno z β -skládaného listu a stěny tvořené α -helixy (Reboul a kol. 2012). Některé postranní řetězce aminokyselinových zbytků peptidu míří do

žlábků a jsou umístěny do specializovaných malých dutin na dně žlábků (Yeturu a kol. 2010). Tyto dutinky jsou rozmístěny po celé délce žlábků a ovlivňují, jaké peptidy se budou vázat. Níže jsou popsány dvě hypotézy předkládajících potenciální mechanismy, díky kterým mohou být HLA molekuly II. třídy zapojené v inicializaci onemocnění.

- i. Změny ve vazebných místech DR/DQ molekul mohou vést k pozměnění stability těchto molekul nebo repertoáru prezentovaných antigenů, což má za následek přednostní ukotvení autoreaktivních antigenů. Tyto pak mohou být rozpoznávány autoreaktivními T buňkami, které jsou stimulovány a aktivují B lymfocyty k produkci autoprotilátek. SNP v oblastech dutin na α nebo β řetězci MHC molekul II. třídy by mohly pozměnit vazebnou afinitu k vlastním peptidům, což umožní autoreaktivním T buňkám uniknout negativní selekci a vstoupit do periferie. Porušení výchovy T lymfocytů v brzlíku způsobí nekompletní centrální toleranci (Gough a Simmonds 2007). Regulační T lymfocyty jsou schopny držet autoreaktivní T lymfocyty pod kontrolou a zabraňují vzniku autoimunních reakcí (Zanelli a kol. 2000). Selhání selekce v brzlíku může také vést k snížení počtu regulačních T lymfocytů, nedojde k adekvátnímu potlačení autoreaktivních T buněk a ty aktivují imunitní odpověď proti vlastnímu tělu (shrnutí v Caillat-Zucman 2009).
- ii. Autoimunitu může také spustit prezentace endogenního antigenu HLA molekulami II. třídy (Dengjel a kol. 2005). Většinou prezentují endogenní antigeny HLA molekuly I. třídy a exogenní antigeny HLA molekuly II. třídy, ale tento systém není absolutní, a proto může být pozorována i prezentace exogenního antigenu I. třídou a endogenního antigenu II. třídou (Brossart a Bevan 1997).

4.1.4 HLA-DRB a HLA-DQB

HLA-DRB a HLA-DQB přispívají k autoimunitním chorobám především díky změnám v doméně, která váže antigeny. Rozdíly souvisejí se zpracováním a prezentací různých autoantigenů zapojených v AO. DRB1 alely jsou díky shodě uvnitř DRB1 domény peptidu v pozici β 70- β 74 s alelami obsahujícími stejné sekvence nazvány sdílený epitop (anglicky shared epitop, SE). Změny v SE nejspíše učiní z protektivních alel predisponující k AO, změni rozpoznání antigenu (Simmonds a Gough 2005).

HLA-DRB1 a HLA-DQB1 predisponují k systémovému lupusu erytematodes, pokud jedinci nesou alely DRB1*1501 (DR2) a DRB1*0301 (DR3) a konkrétně haplotypy obsahující DRB1*1501/DQB1*0602 (DR2/DQ6), DRB1*0301/DQB1*0201 (DR3/ DQ2) a DRB1*0801/DQB1*0402 (DR8/ DQ4) (Graham a kol. 2002, Tsuchiya a kol. 2001, Castaño-Rodríguez a kol. 2008). Nositelé alel DR2 a DR3 jsou také častěji pozitivní na protilátky proti jaderným antigenům (Graham a kol. 2007). HLA-DR3 tvoří část takzvaného rozšířeného haplotypu (anglicky extended haplotype), který je tvořen HLA-A1, B8, DR3 a DQ2, většinou se nachází ve vazebné nerovnováze

s TNF- α a komplementem, které jsou lokalizovány blízko MHC III. třídy (McHugh a kol. 2006, Schotte a kol. 2005).

HLA-DRB1 alely asociované s revmatoidní artritidou projevují velmi nápadnou sekvenční homologii ve třetím hypervariabilním regionu DR β řetězce a zahrnují aminokyseliny v pozicích 70 až 74, tedy žlábků, kam se váží peptidy (Reveille a kol. 1996). Vazba peptidů k HLA-DRB1 molekulám je kontrolována 6 dutinami s mnoha polymorfními aminokyselinami, které vytvoří miliony potenciálních peptid-vazebných epitopů (Freed a kol. 2011). Změny v SE nejspíše mění vazebnou afinitu a snáze váží citrulinované peptidy. Ty jsou prezentovány na povrchu APC a aktivují CD4⁺ Th buňky, diferenciaci B lymfocytů a produkci autoprotilátek proti cyklickému citrulinovanému peptidu (anti-CCP) (van Gaalen a kol. 2004, Holoshitz 2010).

Náchylnost k revmatoidní artritidě je zprostředkována různými HLA-DRB1 alelami, např. kombinace aminokyselin QKRAA (glutamin, lysin, arginin, alanin, alanin v tomto pořadí) v HLA-DRB1*0401, QRRAA (glutamin, arginin, arginin, alanin, alanin) v HLA-DRB1*0101, *0102, *0404, *0405, *0408, *1402 a RRRAA (glutamin, glutamin, glutamin, alanin, alanin) v HLA-DRB1*1001 (Barnetche a kol. 2008, Vignal a kol. 2009). Přesné přispění jednotlivých alel k rozvoji RA není známo, je potřeba dalších výzkumů, které by určily konkrétní dopad alel na patogenezi. Bylo pozorováno, že HLA-DRB1*0401 vázající hsp70 je přepravena z ER (endoplasmatické retikulum) do lysosomu a v lysosomu hsp70 váže autoantigeny, které naloží na HLA-DRB1*0401, což může vést k autoimunitní reakci (Auger a kol. 2007). HLA-DRB1*0401 mohou vázat citrulinovaný vimentin, peptid, který zřejmě aktivuje T buněčný receptor. Dále se ukázalo, že HLA-DRB1*0404 váže více peptidů fibrinogenu, je tak asociovaná s anticitrulinovaným fibrinogenem a může aktivovat pomocné T buňky (Auger a kol. 2005).

Nejenom HLA-DRB1, ale i anti-CCP protilátky predisponují k RA a přítomnost těchto dvou faktorů způsobuje závažnější stav onemocnění (van Gaalen a kol. 2004).

Beretta a kolegové potvrdili asociaci alely HLA-DRB1*11 se SSc (Beretta a kol. 2012). Přítomnost valinu v pozici 86 HLA-DRB1*11 ovlivní ukotvení peptidu ve žlábků a váže s větší afinitou antigeny topoizomerázy 1, které vyvolávají tvorbu protilátek proti topoizomeráze 1. DQB1 alely kódující rezidua bez leucinu v pozici 26 DQ β řetězce také predisponují k rozvoji SSc. SNP v této pozici mění antigen vazebný žlábek a jsou spojovány s vazbou centromerických antigenů a tvorbou protilátek proti těmto antigenům (Arnett a kol. 2010).

4.1.5 TNF

TNF je pluripotentní cytokin, který má cytotoxické a antivirální vlastnosti (Rood a kol. 2000). *TNF* se nachází 850 kb telomericky od *HLA-DRB1* v oblasti MHC III. třídy (Lu a kol. 1997). Obsahuje geny kódující TNF- α a lymfotoxin- α (TNF- β). TNF je degranulující faktor pro neutrofile, zesiluje expresi MHC I. třídy na aktivovaných T buňkách, podporuje IL-2 závislou T buněčnou proliferaci a je to kofaktor B buněčné proliferace a imunoglobulinové produkce.

TNF cytokiny mají několik funkcí, které zřejmě přispívají k rozvoji autoimunitní reakce. Podle potřeby mohou TNF regulovat expresi transkripčních faktorů a zahájit imunitní odpověď proti neznámým peptidům vlastního těla, a také při apoptotických procesech rozpoznávají nové epitopy generované fosforylací nebo proteolýzou. Není zcela jasné, jestli je funkce TNF nezávislá nebo spolu s rozšířeným haplotypem predisponuje k rozvoji SLE (Suaréz a kol. 2005).

Množství TNF u pacientů stoupá ve srovnání s kontrolami a produkce TNF, lišící se od normální, jsou spojeny s typickými projevy SLE. U myši byl potvrzen vliv polymorfismu v *Tnf* genu na patogenezi lupus-like syndromu (Fujimura a kol. 1998). Změna guaninu za adenosin v pozici 308 v TNF- α promotorové oblasti vede ke změně alely *TNF1* alely na *TNF2*, jež je asociována s 6-7 násobně větší transkripcí a expresí TNF- α u pacientů se SLE, což podporuje prozánětlivou reakci (van der Linden a kol. 2001, Lu a kol. 1997, Wilson a kol. 1993).

4.1.6 Složky komplementu

Komplementem označujeme skupinu plasmatických a membránových proteinů, které jsou postupně aktivovány proteolytickým štěpením a brání organismus proti mikrobiální infekci. Mimo to jsou složky komplementu důležité opsoniny, jejich vazba na antigen usnadní odstranění imunitních komplexů a apoptotických debris, které jinak podporují tvorbu zánětu a rozvoj AO (Pickering a Walport 2000).

Kompletní deficiencie časných komponent v klasické cestě aktivace komplementu, především C1q, C1r (lokalizované mimo chromosom 6) a C4, jsou spojeny s rozvojem SLE. Homozygotní deficiencie jedné složky komplementu může být dostatečná pro manifestaci nemoci (Wu a kol. 2009). Deficiencie C4 v myším modelu měla za následek změnu humorální imunitní odpovědi, produkci protilátek proti jaderným antigenům, protilátky proti dsDNA (doublestrand DNA) a rozvoj glomerulonefritidy (Prodeus a kol. 1998). *C4* gen, který se nachází v oblasti MHC III. třídy na chromosomu 6p21.3, kóduje složku komplementu 4. Proteiny lze rozdělit na kyselé C4A a bazické C4B, kde každý *C4* kóduje buď C4A nebo C4B, které mají odlišné funkce. C4A má menší hemolytickou aktivitu než C4B a naopak snadněji váže aminokyselinové skupiny v imunitních komplexech (Schifferli a kol. 1986). Ve výsledku C4A se uplatňuje při odstraňování imunitních komplexů a C4B propaguje aktivaci komplementových kaskád.

Deficiencie složek komplementu je vzácná, není proto možné testovat velké množství pacientů. Wu a kolegové objevili mutace ve 13. exonu *C4* v kodonu 540, kde se díky změně cytosinu za thymin objeví arginin, což má za následek vyřazení exprese C4 proteinu (Wu a kol. 2009). Ve 13. exonu bylo nalezeno polymorfismů více, tudíž je možné, že tento exon je hotspot pro mutace v *C4* (Wu a kol. 2009).

4.1.7 TAP

TAP geny jsou lokalizovány uvnitř oblasti MHC II. třídy mezi DQ a DP lokusy. Proteiny, které kódují, tvoří heterodimery v membráně ER a transportují peptidy tělu vlastní nebo cizorodé

z cytoplazmy do lumen ER. Uvnitř ER jsou peptidy naloženy na molekuly MHC I. třídy, které pokračují na buněčný povrch (Ramos a kol. 2009). U myši Tap2 ovlivňuje výběr endogenních peptidů, které se budou přepravovat a budou prezentovány MHC I. třídy (van Endert 1999). Hrají tedy důležitou roli ve výběru epitopů, které jsou důležité pro výchovu T buněk, jejich selekci a iniciaci a regulaci imunitní odpovědi.

Výsledky analýzy Martín-Villa a kolegů poukazují na přítomnost stop kodonu v pozici 687 (nalezené u pacientů se SLE), který má za následek krátkou cytoplazmatickou doménu. Krátké alely mají funkční odlišnosti a snadněji přepravují jaderné antigeny (např. solubilní substance A,SS-A), které jsou prezentovány CD8⁺ T lymfocytům (Martín-Villa a kol. 1998). Dochází k aktivaci cytotoxických T lymfocytů a apoptóze. Apoptotické debris často vyvolají další imunitní odpověď.

Threonin na pozici 565, která se nachází v hydrofilní membránové doméně TAP2 molekuly, jež koresponduje s vazebným místem peptidu, mění specifitu k transportovanému substrátu (Zhang a kol. 2002). Může docházet k přednostní vazbě autoantigenů, které vyvolají autoimunitní odpověď. Tato varianta byla objevena u pacientů s RA.

4.2 Non-HLA genetické rizikové faktory

Adaptivní imunitní mechanismy reagují na cizorodé látky produkcí vysoce specifických molekul, mezi které patří jednak protilátky, jednak specifické receptory. Receptory na lymfocytech specificky rozpoznávají antigeny, což vede k expanzi klonů patogen-specifických lymfocytů, které se zasadí přímo nebo nepřímo o odstranění patogenů. Pro tento proces je velmi důležité, aby imunitní systém rozeznával, co je tělu vlastní a co ne. T buňky s vysokou afinitou k vlastním antigenům jsou odstraňovány v thymu, což hraje důležitou roli v udržení tolerance k buňkám tělu vlastním. Porucha v odstraňování autoreaktivních buněk může vést k selhání tolerance a rozvoji AO.

V autoimunitní patologii jsou zapojeny především autoreaktivní pomocné T lymfocyty, které produkují prozánětlivé cytokiny a zahájí zánět (Jäger a Kuchroo 2010). Dále poskytují pomoc autoreaktivním B buňkám (Lin a kol. 1991). Expanze a maturace autoreaktivních B lymfocytů vede k produkci autoprotiátok, které přispívají k tkáňovému zánětu. Po setkání s vlastním antigenem dochází k aktivaci, expanzi a diferenciaci pomocných T buněk (Th) do několika efektorových podskupin: Th1, Th2, Th17, regulačních T lymfocytů (Treg) a dalších v závislosti na cytokinovém pozadí. Th1 buňky produkují interferon gama (IFN- γ), lákají a aktivují makrofágy v místě zánětu produkováním cytokinů a mohou vést k rozvoji AO. Th2 lymfocyty často přispívají k produkci autoprotiátok, protože pomáhají autoreaktivním B buňkám, jinak nejsou považovány za řídicí sílu autoimunitní patologie. Treg slouží ke kontrole efektorových T buněk. Treg hrají důležitou roli při udržení tolerance k vlastním buňkám a kontrolování expanze autoreaktivních CD4⁺ T buněk. Dysfunkce nebo deficeience regulačních T buněk může mít za následek vznik autoimunitních chorob (Chatila 2009, Adeegbe a kol. 2010).

Vrozené imunitní mechanismy se také účastní vzniku mnoha onemocnění, především skrze mastocyty, NK buňky, makrofágy, bazofily a eosinofily. Antigeny aktivované Toll-like receptory (TLR) mohou iniciovat vznik a podílet se na regulaci AO.

Pro hlubší pochopení mechanismů, jež mají za následek AO, je důležité najít varianty v DNA měnící funkce genů a postihující roli proteinů, které kódují a jsou zapojené ve fyziologických a imunologických drahách.

4.2.1 *PTPN22*

Gen *PTPN22* (protein tyrosine phosphatase nonreceptor type 22) je lokalizován na chromosomu 1p13.3-13.1 a kóduje 110 kD dlouhý protein, cytoplazmatickou lymfoidní specifickou fosfatázu (Lyp, lymphoid specific phosphatase), silný inhibitor T buněčné signalizace (Cohen a kol. 1999). Její N terminální konec obsahuje katalytické místo fosfatázy a posledních 200 aminokyselin C terminálního konce kóduje na prolin-bohatý sekvenční motiv (P1-P4). P1 se váže k SH3 doméně na Csk tyrosin kináze, která potlačuje funkci kináz z rodiny Src (negativně reguluje signalizaci T buněčného receptoru, TCR).

Csk kináza fosforyluje negativní regulační tyrosin na kináze Lck a PEP defosforyluje pozitivní regulační místa Lck. Díky tomu se podílí na inaktivaci Lck kinázy, jež je klíčová pro iniciaci TCR signalizace (Nika a kol. 2007). Inhibice Lck vede k inhibici TCR signalizace. Knockout myši s nedostatkem PEP vykazovaly selektivní dysregulaci efektorových/paměťových T buněk, zesílenou aktivaci Lck, hyperproliferaci a přehnaně časnou signalizaci a odpověď v T buňkách (Carlton a kol. 2005, Begovich a kol. 2004). U myši však nedošlo k rozvoji autoimunity, což je přikládáno faktu, že PEP knockout myši ztratily funkci PEP, kdežto u SNP rs2476601 dojde k zisku funkce.

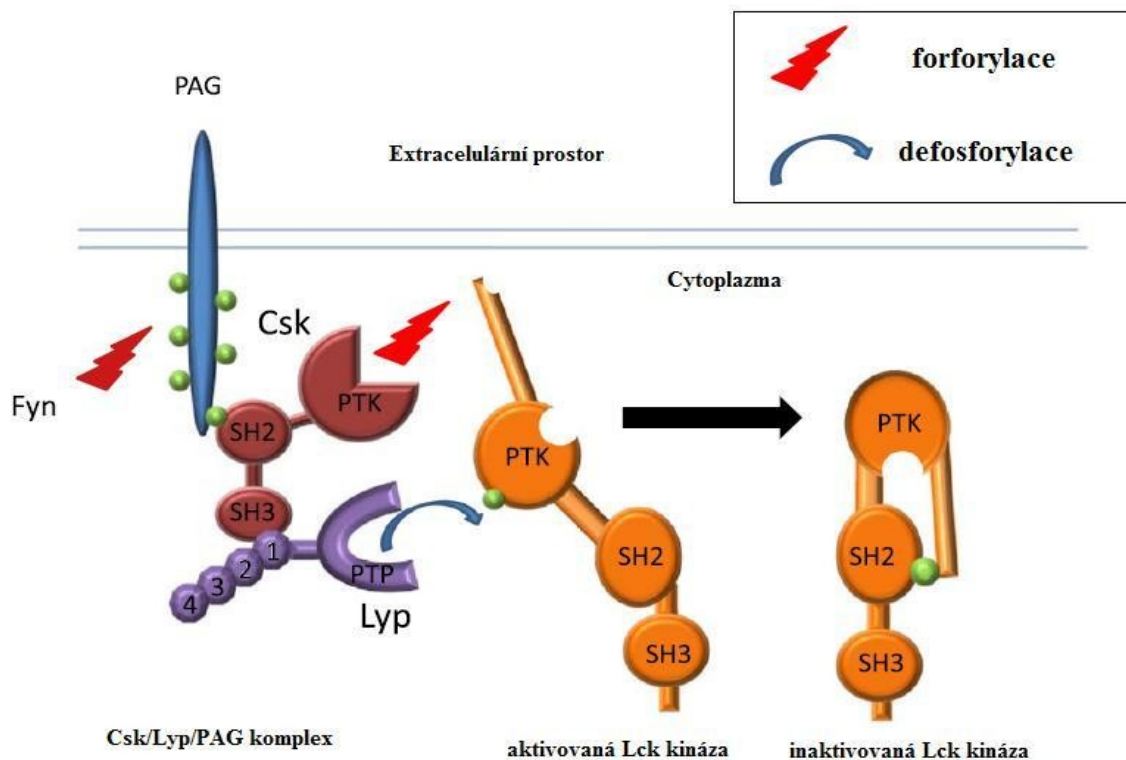
PTPN22 obsahuje mnoho SNP, ale SNP rs2476601, kde dochází k výměně cytosinu za thymin v nukleotidu 1858 (C1858T), má za následek aminokyselinovou změnu z argininu na tryptofan v kodonu 620 (R620W) lokalizovaném v P1 oblasti. Zde dochází k vazbě Lyp s SH3 doménou Csk kinázy a R620W naruší vazbu Lyp a Csk.

Tato mutace vede k zisku funkce a kóduje aktivnější fosfatázu Lyp620W, která se stane výkonnějším inhibitorem TCR signalizace (Zikherman a kol. 2009). Jak tento zisk funkce ovlivňuje imunitní reakce, není zcela známé. Aminokyselinová změna sníží TCR vyvolanou fosforylací a zesílí fosfatázovou aktivitu, která je odpovědná za snížení T buněčné aktivace (Cloutier a Veillette 1999). Zesílená inhibice TCR signalizace v brzlíku má za následek poškození negativní selekce a eliminace potenciálních autoreaktivních T buněk a vede k nedostatečné produkci Treg buněk. Snížení TCR signalizace v efektorových T lymfocytech vyústí ve snížení produkce IL-2, který poškozuje expanzi Treg do periferie (Vang a kol. 2005). Treg buňky udržují periferní toleranci, potlačují aktivitu efektorových T buněk a autoreaktivní T lymfocyty reagovat na vlastní tkáň.

Dále se objevil názor, že mutace je odpovědná i za porušení BCR signalizace. Přítomnost *PTPN22* R620W rizikové alely je dostatečná pro selhání odstraňování autoreaktivních B buněk

z periferie a má za následek nahromadění velkého počtu maturujících naivních B buněk, které produkují autoreaktivní protilátky (Menard a kol. 2011). Dochází k tvorbě imunokomplexů, které se ukládají v nejrůznějších tkáních a vedou k rozvoji zánětu.

Polymorfismus R620W je označen jako rizikový faktor pro mnoho AO, především diabetes melitus 1. typu (DM1), RA, SLE a mnoho dalších (Kyogoku a kol. 2004, Seldin a kol. 2005). Existuje studie, která spojuje polymorfismus R620W i se systémovou sklerózou (Diaz-Gallo a kol. 2011).



Obr. 4: Csk a Lyp inaktivují Lck
Upraveno podle: Burn a kol. 2011

4.2.2 STAT4

Gen *STAT4* (signal transducer and activator of transcription) je lokalizovaný na chromosomu 2q32.3, skládá se z 24 exonů a zabírá oblast přibližně 120 kb dlouhou (Sigurdsson a kol. 2008). *STAT4* kóduje transkripční faktor, který je členem *STAT* rodiny produkované hlavně v lymfocytech, makrofázích a DC.

STAT4 transkripční faktor přenáší signály vyvolané klíčovými cytokiny, jako jsou IL-12, IL-23 a interferon typu 1. Po navázání IL-12 na interleukinový receptor je *STAT4* fosforylován a formuje homodimery, které jsou přepraveny a akumulovány v jádře (Gourh a kol. 2009). Aktivovaný stimuluje transkripci specifických genů, například IFN- γ , který je zodpovědný za diferenciaci pomocných T buněk na Th1 lymfocyty (Remmers a kol. 2007). *STAT4* se účastní diferenciace Th17. Th17 buňky hrají důležitou roli v chronických zánětlivých onemocněních. Přehnaná diferenciace Th1 i Th17 buněk (způsobená pozměněnou regulační funkcí *STAT4*) zvýší produkci prozánětlivých cytokinů a projeví

se vznikem zánětlivé reakce. V DC STAT4 vyvolává produkci interferonů typu 1, která vede k aktivaci a maturaci DC. Maturované plazmocytoidní DC exprimují na svém povrchu TLR, které rozeznávají hlavně RNA a DNA obsaženou v imunitních komplexech a produkují IFN- γ . Rozeznání imunitních komplexů, které obsahující vlastní DNA nebo RNA, vyvolá vyšší produkci autoprotilátek pozorované u pacientů se SLE a RA (Taylor a kol. 2008, Morgan a kol. 2010).

SNP haplotypy na třetím intronu *STAT4* byly asociovány s vnímavostí k RA i SLE (Remmers a kol. 2007). Byly prozkoumány rizikové alely, např. alela rs7574865T (Kawasaki a kol. 2008). U SLE se předpokládá, že polymorfismy ovlivní sestřih genu nebo pozměnění regulační funkce. Pozměněná regulační funkce transkripčního faktoru vyvolá produkci TH1 a Th17 buněk, zánětlivých cytokinů a autoprotilátek. SNP v tomto genu jsou spojeny s těžším průběhem nemoci (rozvojem nefritidy) a brzkým počátkem nemoci (Taylor a kol. 2008). U SSc byly identifikovány polymorfismy asociované s rozvojem onemocnění a to například varianta rs11889341 (Gourh a kol. 2009).

4.2.3 *TNFAIP3*

Gen *TNFAIP3* (tumor necrosis factor α induced protein 3) se nachází na chromosomu 6q23. *TNFAIP3* kóduje ubiquitin-modifikující enzym A20, klíčový inhibitor NF- κ B aktivace. NF- κ B je dimerický transkripční faktor regulovaný dalšími proteiny, které umožňují jeho vstup do jádra, kde stimuluje expresi mnoha genů, především zánětlivých cytokinů (Kawasaki a kol. 2010). NF- κ B má důležitou roli v zánětlivé odpovědi a imunitních reakcích a jeho dysregulace je spojena s několika AO (Adrianto a kol. 2011). Neadekvátní aktivace NF- κ B podporuje zánětlivou odpověď, zatímco přetrvávající inhibice vede k nepatřičnému rozvoji imunitních buněk (dendritických buněk) a zpoždění buněčného růstu.

Zdá se, že A20 narušuje TNF vyvolanou NF- κ B aktivaci díky své schopnosti úpravy ubiquitinu (Coornaert a kol. 2009). A20 obsahuje N terminální doménu, která patří mezi deubiquitinující cysteinové proteázy a mutace v této doméně může mít za následek selhání deubiquitinace a tím pádem i inhibice NF- κ B. Myši trpící nedostatkem A20 rozvinuly systémové orgánové záněty a umřely během šesti týdnů od narození a myši se specifickou B buněčnou delecí A20 projevíly lupus-like autoimunitu (Adrianto a kol. 2011).

Dřívější studie naznačily, že A20 negativně reguluje imunostimulační efekt DC a snižuje prezentaci antigenu, tudíž jeho redukovaná funkce možná vyvolává nadměrnou aktivaci DC a vede ke ztrátě tolerance rozpoznávání vlastních antigenů (Song a kol. 2008, Coornaert a kol. 2009).

SNP rs2230926 je nesynonymní varianta lokalizovaná ve třetím exonu kódující oblasti *TNFAIP3* a je asociovaná především se SLE a RA (Elsby a kol. 2010, Shimane a kol. 2010). Tato varianta představuje aminokyselinovou změnu Phe za Cys na pozici 127 v C terminální doméně. Byly objeveny i další SNP asociované s AO, což z *TNFAIP3* dělá rizikový gen společný pro několik AO.

4.2.4 *IRF5*

Gen pro interferon regulační faktor 5 (interferon regulatory factor 5, IRF5) kóduje klíčový transkripční faktor z rodiny interferon regulačních faktorů, esenciální pro vrozenou imunitní odpověď. Je umístěn na chromosomu 19p13.2 (Sigurdsson a kol. 2005). Expresi IRF5 byla detekována primárně v B lymfocytech a DC. IRF5 transkripční faktor je aktivován TLR, které jsou důležité pro indukci IFN- α genu, reguluje expresi *IFN* genů, zánětlivých cytokinů a genů zapojených v apoptóze.

Interferony typu I obsahují řadu cytokinů, které jsou typicky produkovány během virové infekce. Změna regulační funkce IRF5 může způsobit nadměrnou produkci INF, která ovlivní expresi prozánětlivých cytokinů a chemokinů, maturaci DC, aktivaci autoreaktivních B a T buněk, produkci protilátek a ztrátu vlastní tolerance. Tento systém je zapojen v mnoha AO jako je SLE, DB1, RA a dalších. Haplotypy asociované s predispozicí k AO mění především transkripční funkci IRF5, která vede k zvýšené expresi IRF5 mRNA a chemokinů. Polymorfismy uvnitř *IRF5* genu mohou poškodit několik buněčných funkcí důležitých pro rozvoj AO.

IRF5 SNP rs2004640 v prvním nukleotidu intronu 1 má možná roli ve změně sestřihu exonu 1 *IRF5* genu a je asociovaný se SLE (Garnier a kol. 2007, Sigurdsson a kol. 2005). Další predispoziční alela asociovaná se SLE je např. rs10954213 (Rullo a kol. 2010).

Stejně jako u SLE byl i u RA detekován rizikový SNP rs2004640 a dále polymorfismy rs3807306, rs3757385 a rs752637 (Sigurdsson a kol. 2007). Je zajímavé, že rizikové faktory byly detekovány většinou u anti-CCP negativních pacientů, což naznačuje, že anti-CCP negativní RA by mohla mít odlišné rizikové faktory než anti-CCP pozitivní RA a mohly by být charakterizovány jako genotypicky odlišné podskupiny RA (Sigurdsson a kol. 2007).

Ramos a kol. se domnívají, že SNP rs10488631 je společný nejen RA a SLE, ale také SSc (Ramos a kol. 2011).

4.2.5 *TNFSF4* a *TNFRSF4*

Gen *TNFSF4* (tumor necrosis factor ligand superfamily member 4) kóduje ligand OX40 (OX40L) známý také jako CD252. *TNFRSF4* (tumor necrosis factor receptor superfamily member 4) gen determinuje receptor pro OX40 ligand, pojmenovaný také jako CD134. OX40 je membránový receptor exprimovaný na aktivovaných CD4⁺ T buňkách. Jeho ligand se nachází na aktivovaných APC, především B buňkách, makrofázích a DC. OX40L zprostředkovaná signalizace inhibuje vývoj a funkci CD4⁺ T buněk, ale vyvolá aktivaci a diferenciaci B buněk, stejně jako produkci IL-17. Jejich interakce poukazuje na spojitost s autoimunitou.

Zdá se, že přílišné množství TNFRSF4 na aktivovaných T buňkách během antigen specifické buněčné stimulace může zabránit odstraňování efektorových buněk z periferie (Farres a kol. 2011). To znamená větší počet T buněk, které přežijí primární imunitní odpověď a vyvinou se v paměťové T buňky. Pokud se setkají se specifickými antigeny, mohou vést k rozvoji AO. TNFSF4 zesiluje B buněčnou proliferaci a diferenciaci, jeho upregulace může zvýšit B buněčnou aktivitu, která byla

nalezena například u SLE pacientů (Farres a kol. 2011). CD252 také negativně reguluje vývoj a funkci IL-10 produkujících regulačních T buněk, které hrají klíčovou roli při udržování periferní tolerance. Blokování OX40 aktivace v myším modelu zánětlivého onemocnění (experimentální alergická encefalomyelitida, EAE) vedlo ke snížení zánětlivého procesu (Weinberg a kol. 1999).

Polymorfismus v *TNFSF4* genu je asociovaný s náchylností k SSc (Gourh a kol. 2010). Gourh a jeho kolegové objevili několik polymorfismů, které predisponují k rozvoji SSc: rs1234314, rs2205960 a rs844648 (Gouth a kol. 2010). Tyto SNPs se nacházejí uvnitř 5'promotorové oblasti *TNFSF4*, ale jejich konkrétní regulační role není známa.

Později byla prokázána predispozice k SLE díky polymorfismům v této oblasti. Dvě varianty byly nalezeny velmi blízko počátku exonu v upstream regionu *TNFSF4*: rs12039904 a rs1234314. Data Cunninghame a kolegů naznačují, že variace v upstream regionu genu mohou zvyšovat expresi *TNFSF4* a tudíž zvyšovat kostimulaci CD4⁺ T buňkám a dále aktivovat APC, které produkují *TNFSF4* (Cunninghame a kol. 2008).

Zdá se, že OX40 a OX40L jsou produkovány v zanícených kloubech pacientů s RA, což poukazuje na možné zapojení v patogenezi RA. V myším modelu RA interakce receptoru a jeho ligandu vede k rozvoji kolagenem indukované artritidy (collagen-induced arthritis, CIA, myši ekvivalent revmatoidní artritidy) skrze zesílení Th1 typu AO (Yoshioka a kol. 2000). Je potřeba více výzkumů pro objasnění konkrétních genetických rizikových faktorů.

4.2.6 *BANK1*

Gen *BANK1* je dlouhý přibližně 284 kb, obsahuje 17 exonů a nachází se na chromosomu 4q24. Kóduje 755 aminokyselin dlouhý protein BANK1 (B buněčné proteinové lešení 1 s ankyrinovými repetitivy, B-cell scaffold protein with ankyrin repeats 1) (Yokoyama a kol 2002).

BANK1 je produkován především v B lymfocytech, jeho aktivace může ovlivnit Ca⁺² mobilizaci z intracelulárních zásobáren vyvolanou B buněčným receptorem. Vápník je sekundární posel potřebný pro aktivaci proteinů. Tyto proteiny následně aktivují nejrůznější transkripční faktory.

BANK1 je potvrzený rizikový faktor pro SLE. Guo a kolegové objevili nejsilnější asociaci s rs17266594 a rs10516487 (Guo a kol. 2009). SNP rs10516487 vede k nesynonymní substituci argininu za histidin v pozici 61, která leží v oblasti nepostradatelné pro vazbu IP(3)R (Guan a kol. 2011). U jedinců nosících R61H může dojít ke změně B buněčné aktivace díky BCR, což vede k fosforylaci a signalizaci BANK1 a takto může přispět k produkci autoprotilátek. SNP rs17266594 se nachází v branch point-site a postihuje relativní účinnost sestřihu *BANK1*. Odlišnosti v sestřihu pak mohou vést až k B buněčné hyperaktivitě nebo dysregulované aktivaci B lymfocytů, která vede k produkci autoprotilátek. Výsledky Chang a kolegů naznačují, že dalšího SNP rs3733197 způsobí substituci v ankyrinové doméně (A383T) (Chang a kol. 2009). Mutace v ankyrinovém motivu mění interakci s IP(3)R a napadá mobilizaci vápníku.

U pacientů s SSc byla nalezena asociace s výše zmíněnými SNP rs10516487 a rs17266594, ale pouze u podskupiny difúzní kožní SSc (diffuse cutaneous SSc, dcSSc) (Rueda a kol. 2010, Dieudé a kol. 2009).

4.2.7 *BLK*

Gen pro B lymfoidní tyrosin kinázu (B lymphoid tyrosine kinase) *BLK* je umístěn na chromosomu 8p23.1. Tyrosin protein kináza Blk je členem rodiny Src kináz, které zprostředkovávají intracelulární signalizaci a ovlivňují proliferaci, diferenciaci a toleranci B lymfocytů.

Exprese *BLK* je omezená na B buňky, přenáší signál downstream od BCR a hraje roli v BCR signalizaci a rozvoji B lymfocytů. BCR signalizace je důležitá pro ustavení B buněčného repertoáru. Rizikové alely *BLK* jsou asociovány s redukovanou expresí *BLK* mRNA v B buněčných liniích. Další hypotézou je, že Blk zabraňuje apoptóze. Myši s nedostatkem Blk potlačily počet pre-B lymfocytů a podstatně zredukovaly B buňky v periférii (Gourh a kol. 2010). V pre-B lymfocytech je Blk důležitý pro aktivaci NF-κB a zahájení rozvoje B lymfocytů. Nedostatek Blk anuluje BCR zprostředkovanou aktivaci NF-κB. Existují domněnky, že pozměněné hladiny proteinu Blk vedou k dysregulaci v BCR a NF-κB signalizaci, což poškozuje udržení imunitní rovnováhy a tolerance v B buňkách (Hom a kol. 2008).

Genetické variace v oblasti upstream od iniciace transkripce genu *BLK* a *C8orf13* jsou spojeny s predispozicí k AO. Především ke SLE prostřednictvím SNP rs13277113, který se nachází mezi geny *C8orf13* a *BLK* (mají čtecí rámce v opačných orientacích) (Ito a kol. 2009). Tato varianta zodpovídá za zvýšení exprese *C8orf13* a snižující se expresi Blk mRNA (Hom kol. 2008). Další varianta je rs2736340, která se také nachází mezi *C8orf13* a *BLK* geny (Zhou a kol. 2012).

Ito a kolegové navrhuji, že alela rs13277113A je asociovaná nejenom se SLE, ale i s SSc, a *C8orf13-BLK* oblast je společným rizikovým faktorem pro více AO (Ito a kol. 2010, Gourh a kol. 2010).

4.2.8 *CTLA4*

Lidský gen *CTLA4* je lokalizovaný na chromosomu 2q33 a kóduje cytotoxický s T lymfocyty asociovaný antigen 4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4, CTLA4) z rodiny imunoglobulinů. CTLA4 je strukturně velmi podobný receptoru CD28. *CTLA4* má nukleotidovou velikost okolo 6,2 kb a obsahuje 4 exony.

CTLA4 je vyjádřen na aktivovaných CD4⁺ a CD8⁺ T lymfocytech a je homologem CD28. Obě molekuly spolu s jejich ligandy B7 zprostředkují kostimulační signál T lymfocytům. Zatím co interakce CD28 s ligandy je klíčová pro zvýšení a udržení T buněčné odpovědi zahájené díky TCR, CTLA4 interakce se stejnými ligandy má inhibiční efekt na aktivaci T lymfocytů a možná se podílí na udržení periferní tolerance (Krummel a Allison 1995). Hlavní funkcí CTLA4 je negativní regulace funkce Th buněk inhibicí proliferace a syntézou cytokinů.

Substituce aminokyseliny v pozici 49 vede ke změně alaninu na threonin ve vedoucí sekvenci, která je dále zpracovávána v ER. To může mít za následek špatné zpracování CTLA4 v ER, menší účinnost glykosylace a redukovanou expresi proteinu na membráně, což by znamenalo nedostatečnou inhibici T buněčné odpovědi a rozvoj zánětu (Mäurer a kol. 2002).

Kvůli své funkci v imunitním systému je *CTLA4* považován za vhodného kandidáta na post rizikového faktoru v mnoha AO. Výsledky Ahmed a kolegů naznačují, že polymorfismus A49G je spojen s náchylností k SLE (Ahmed a kol. 2001). Další studie ukazují, že jsou velké rozdíly mezi etnickými populacemi a jednotlivé výsledky se liší. Je potřeba více studií pro prokázání asociace mezi SLE a *CTLA4*.

Stejně jako u SLE byl polymorfismus A49G prokázán i u RA pacientů, ale pouze při současném výskytu dalšího AO, například autoimunitní endokrinopatie a Hashimotova thyritida (Vaidya a kol. 2002, Benhatchi a kol. 2011).

Rodríguez a kolegové objevili vzrůstající počet RA pacientů, kteří nosí polymorfismus v 3'UTR (3'nepřekládaná oblast) genu *CTLA4*. Pacienti se lišili v počtu dinukleotidových (AT)_n opakování. Pokud je jedinec nositelem 16 a více (AT) opakování v této oblasti, tak polymorfismus v 3'UTR ovlivňuje predispozici k RA (Rodríguez a kol. 2002). 3'UTR bohatá na AU ovlivňuje stabilitu mRNA. Zdá se, že příliš dlouhá mRNA je nestabilní, což přispívá k narušení homeostaze T lymfocytů.

4.2.9 Fcγ receptory

Na chromosomálním lokusu 1q21.1-24 se nachází strukturně odlišná skupina receptorů, které rozpoznávají konstantní Fc část specifických imunoglobulinových isotypů. Fcγ receptory jsou rozděleny do tří rodin FcγRI, FcγRII, FcγRIII, dvě z nich budou popsány blíže.

Produkce autoprotilátů a tvorba imunokomplexů je běžná pro pacienty se SLE, proto je logické propojení role receptorů pro Fc oblast IgG (FcγR) s patogenezí SLE. Změna či zpoždění odstranění imunokomplexů obsahujících autoprotilátky má za následek ukládání těchto komplexů v tkáních následované zánětem a jejich poškozením (Willcocks a kol. 2008). Tyto glykoproteiny usnadní účinnost interakce na protilátku navázaného antigenu s efektorovou buňkou imunitního systému. Regulují jednak humorální, jednak celulární imunitní odpověď, především fagocytózu, degranulaci, transkripční regulaci exprese cytokinů a chemokinů, aktivaci B lymfocytů a odstraňování imunitních komplexů.

Mezi FcγRII receptory patří tři geny *FCGR2A*, *FCGR2B* a *FCGR2C*, které kódují FcγRIIa, FcγRIIb a FcγRIIc proteiny. FcγRII mají nízkou vazebnou afinitu k monomerní IgG, ale velmi ochotně váží imunokomplexy. Nacházejí se na monocitech, DC, neutrofilech, B lymfocytech, krevních destičkách a NK buňkách.

Nesynonymní změna aminokyseliny histidinu na arginin v pozici 131 v druhé extracelulární Ig doméně FcγRIIa proteinu vede ke změně rozpoznávání ligandu (Karrasa a kol. 2002). Varianta s histidinem v pozici 131 váže IgG2 účinně, kdežto varianta s argininem IgG2 neváže. Tato změna

afinity vede k funkčním změnám, homozygotní R131 mají méně výkonné fagocyty a trvá velmi dlouho, než jsou IgG2 opsonizované částice fagocytovány, což bylo pozorováno u pacientů se SLE. Nesynonymní SNP, záměna isoleucinu za threonin v pozici 187 v transmembránové doméně FcγIIb, je další predisponující genetický faktor (Kono a kol. 2005). FcγIIb inhibuje aktivaci B lymfocytů a produkci protilátek, SNP v FCGR2B zřejmě mění inhibiční funkci proteinu a vede k nadbytečné produkci protilátek u SLE jedinců (Su a kol. 2004).

FCGR3A a *FCGR3B* kódují dva receptory z rodiny FcγRIII, které jsou také nízkoafinitní, nicméně FcγRIIIa váže se střední afinitou monomerní IgG a oba váží účinné multimerické IgG stejně jako imunokomplexy (Gene database dostupné z <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>).

Koene a kol. objevili SNP v pozici 158, kde dochází k záměně valinu za fenylalanin ve druhé extracelulární doméně FcγRIIIa proteinu (Koene a kol. 1998). Tato varianta má nižší vazebnou afinitu k IgG podtřídám a vede nejspíše k méně účinnému odstraňování imunokomplexů nebo opsonizovaných bakterií fagocyty u pacientů se SLE. Tento SNP byl nalezen i u jedinců s RA a přispívá k modulování zánětu v synoviu (Morgan a kol. 2006).

4.2.10 FAS

Gen *FAS* se nachází na chromosomu 10q24.1. Protein, který tento gen kóduje, spadá do rodiny TNF receptorů. Fas receptor obsahuje tzv. „doménu smrti“, která je důležitá pro regulaci programované buněčné smrti a je spojena s patogenezí AO (Gene database dostupné z <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Také se zdá, že váže transkripční faktory, které ovlivňují intenzitu exprese Fas v buňkách. Fas receptor vyvolává selekci v brzlíku a periferní toleranci imunitního systému.

Alternativním sestřihem transkriptu mohou vznikat dvě formy, membránový Fas receptor (mFas), zakotvený na povrchu lymfocytů, epitelálních buněk, fibroblastů, osteoblastů, a potom rozpustný Fas (soluble Fas, sFas). Po interakci mFas receptoru se svým ligandem FasL dojde k vyvolání apoptózy, kdežto sFas brání buňkám projít programovanou buněčnou smrtí. Interakcí se svým ligandem dochází k formaci komplexu, který zahrnuje FADD (Fas-associated death domain protein), kaspázu 8 a 10 (shrnutí v Singh a kol. 2009). Kaspázy se v komplexu štěpí, čímž se aktivuje kaskáda, která vyvolá rozpad cytoskeletálních a nukleárních proteinů a spustí apoptózu. FasL se vyskytuje především na T lymfocytech aktivovaných interakcí TCR a APC. FasL se nachází také na cytotoxických T buňkách a interakcí s Fas receptorem na napadených buňkách dochází k jejich usmrcení.

Mutace ve *FAS* jsou spojené se ztrátou regulace B lymfocytů a predispozicí k SLE. Nedostatečné odstranění apoptotických debris vede k uvolnění jaderných autoantigenů na povrchu buněk podléhajících apoptóze, mohou spouštět autoimunitní reakce a také produkci protilátek (shrnutí v Singh a kol. 2009). Dochází k tvorbě imunitních komplexů, které se ukládají do nejrůznějších tkání, a vyvolání zánětu, což je časté pro mnohé AO.

Zvýšená regulace proteinu předchází apoptózu. Nejzkoumanější polymorfismus se nachází v oblasti promotoru. SNP v pozici 670, kde dochází k aminokyselinové záměně adeninu za guanin, naruší vazebné místo pro STAT1, který mění expresi FAS (Huang a kol. 1997). Sníží se exprese FAS, což vede k porušení indukce apoptózy. Poruchy v indukcii apoptózy stejně jako nedostatečné odstraňování apoptotických debris mají za následek rozvoj SLE.

U jedinců se SSc a RA bylo pozorováno zvýšené množství sFas, které možná chrání autoreaktivní T lymfocyty před apoptózou (Dziankowska-Bartkowiak a kol. 2003, Ateş a kol. 2004). Jedinci nosící rizikovou alelu 670G jsou více napadáni autoreaktivními T lymfocyty a produkcí protilátek, jak bylo pozorováno u SSc (Broen a kol. 2009).

4.2.11 Specifické non-HLA genetické rizikové faktory

Kromě non-HLA genetických rizikových faktorů sdílených různými systémovými AO existují i geny predisponující jen k jednomu systémovému AO, pro něž jsou typické. Tyto specifické non-HLA genetické rizikové faktory poukazují na odlišnosti mezi jednotlivými AO. Jsou důležité především pro pochopení mechanismu vzniku dané choroby.

ITGAM

ITGAM (integrin α M) gen se nachází na chromosomu 16p11.2 (Nath a kol. 2008). Kóduje povrchový buněčný receptorový protein (integrin) interagující s monocyty, makrofágy a granulocyty. *ITGAM* zprostředkovává příjem komplementem pokrytých částic (Kim-Howard a kol. 2010).

ITGAM kóduje α řetězec (Mac-1, CR2, CD11b/CD), který v kombinaci s integrinem β_2 tvoří specifický integrin leukocytů (Fan a kol. 2010). $\alpha M\beta_2$ je důležitý pro přilnavost neutrofilů a monocytů ke stimulovanému endotelu a pro fagocytózu částic obalených komplementem. *ITGAM* může potlačit diferenciaci Th17 buněk (Yang a kol. 2009). Nedostatek *ITGAM* vede k zvýšení množství IL-6, který produkují APC a následnou diferenciaci naivních T buněk v Th17.

SNP ve 3. exonu genu *ITGAM* je asociovaný se SLE. Polymorfismus rs1143679 způsobuje konverzi argininu v pozici 77 na histidin (R77H) (Han a kol. 2009). Tato aminokyselinová záměna nejspíše mění strukturu vazebného místa na $\alpha M\beta_2$ a vazebnou afinitu k fragmentům komplementu a dalších ligandů, které jsou potřebné pro adhezi. Narušení vazby k fragmentům komplementu by mohlo negativně ovlivňovat odstraňování imunokomplexů a způsobit jejich ukládání v tkáních. Nepatřičná vazba k ligandům ovlivňujících přilnavost má za následek nedostatečný signál pro adhezi imunitních buněk k endotelu. Imunitní buňky nemohou vycestovat k místu zánětu a potlačit ho.

Úroveň $\alpha M\beta_2$ je vysoká na neutrofilech u pacientů se SLE a pro toto onemocnění je typické udržování zánětu, které polymorfismy v *ITGAM* způsobují.

PADI4

Gen *PADI4* (peptidylarginin deamináza typ 4) je lokalizován na chromosomu 1p36v oblasti, kde se nacházejí geny *PADI*. Tyto geny kódují kalcium dependentní enzymy, které v peptidech

katalyzují přeměnu argininových zbytků na citrulin (Suzuki a kol. 2003). PADI4 mRNA byla detekována v hematologických buňkách a patologických synoviálních tkáních. Zdá se, že citrulin v proteinech tvoří epitopy, které jsou rozpoznávány autoprotilátkami u pacientů s RA.

Jednonukleotidová záměna nebo delece v kódující oblasti ovlivňuje stabilitu transkriptu (Iwamoto a kol. 2006, Lee a kol. 2007). Predispoziční haplotyp pravděpodobně zprostředkovává vyšší akumulaci PADI4 proteinu v synoviálních tkáních, neutrofilech a monocytech, což vede k zvýšené produkci citrulinovaných peptidů v RA. Dále vede k produkci cytokinů a prolomení tolerance k citrulinovým peptidům, které jsou prezentovány a rozpoznávány autoprotilátkami. Citrulinované peptidy jsou typické pro rozvoj revmatoidní artritidy a patří mezi specifické ukazatele nemoci.

TREX1

TREX1 (three prime repair exonuclease typ 1) gen se nachází na chromosomu 3p21.31 a obsahuje jeden exon kódující polypeptid (314 aminokyselin dlouhý), známý jako hlavní 3'→5' exonukleáza, která byla nalezena v savčích buňkách. DNA nukleázy jsou důležité pro udržení stability genomu a jsou zapojeny v procesech, jako jsou DNA replikace, opravy a rekombinace. Mohou být rozděleny na endonukleázy, které štěpí DNA uvnitř nukleotidové sekvence a exonukleázy, které štěpí fosfodiesterové vazby na konci DNA. Nukleázy u savců zpracovávají DNA a RNA polynukleotidy a zabráňují zbytečnému aktivování imunitního systému (Namjou a kol. 2011). Jako první bylo spojení mezi TREX1 a imunitní aktivací nalezeno u myši, které netvořily *Trex1*. Ty rozvinuly letální AO s vysokou produkcí IFN typu I. Exonukleáza TREX1 hydrolyzuje cílové sekvence a nejspíše asistuje DNA polymeráze, zvyšuje její přesnost. Má roli v procesech spojených s buněčnou smrtí a DNA degradací, kde minimalizuje imunitní aktivaci vlastní DNA.

Během aktivace dráhy způsobující buněčnou smrt je exonukleáza TREX1 přemístěna do jádra, kde působí na 3' konce DNA. Defektní TREX1 má za následek selhání degradace ssDNA nebo dsDNA, což vede k imunitní aktivaci a rozvoji protilátek proti těmto molekulám.

Mutace v *TREX1* byly identifikovány jen u 3 % pacientů se SLE (Kavanagh a kol. 2008). R114H mutace, změna argininu na histidin v pozici 114, která se nachází v katalytické doméně, vede ke snížení exonukleázové aktivity (Lehtinen a kol. 2008). Heterozygoti nosící tuto mutaci byli nalezeni mezi pacienty se SLE (Kavanagh a kol. 2008). Mutace má za následek zvýšení množství ssDNA nebo dsDNA, proti kterým se mohou tvořit protilátky. Tvorba protilátek proti dsDNA je specifická pro SLE. Ostatní mutace spojené s SLE se nacházejí mimo katalytickou doménu v C terminální doméně, jejich význam je neznámý.

PDCD1

Gen *PDCD1* (z anglického programmed cell death 1) se nachází na chromosomu 2q37.3. Tento gen kóduje membránový protein z rodiny imunoglobulinů. Vyskytuje se na pre-B buňkách a je

zainteresován v jejich diferenciaci. Produkt genu má nejspíše dopad i na funkci T lymfocytů a je důležitý pro zabránění propuknutí AO.

PDCD1 protein moduluje aktivaci lymfocytů. Obsahuje imuno-inhibiční doménu v intracelulární části, kde se nachází ITIM (immunoreceptor tyrosin-based inhibition motif), motiv, který je společný pro skupinu rozličných inhibičních receptorů. Po fosforylaci tyrosinu v ITIM molekula interaguje s fosfatázami, které obsahují SH2 domény (SH2-containing tyrosin phosphatase 1) a negativně regulují buněčnou aktivitu (Ferreiros-Vidal a kol. 2004). Po aktivaci v T a B lymfocytech a po navázání na své ligandy (přítomných v mnoha tkáních) zmírní B a T buněčnou odpověď. Myši postrádající *Pdcd1* rozvinuly podobný fenotyp jako SLE s ukládáním C3 a IgG3 doprovázené dalšími autoimunitními znaky. Výsledky potvrdily, že PDCD1 je nezbytný negativní regulátor reakcí zaměřených proti vlastnímu tělu a udržuje periferní toleranci.

SNP v 4 intronu nazvaný PD1.3 (PD1.3 změna G na A) má funkční dopad na vazbu transkripčního faktoru RUNX1, který nejspíše mění expresi PDCD1. Jak přesně tento SNP ovlivňuje funkci PDCD1 není známo, ale v několika studiích byl potvrzen jako rizikový faktor pro SLE (Velázquez-Cruz a kol. 2007, Thorburn a kol. 2007, Ferreiros-Vidal a kol. 2004).

IRAK1

IRAK1 se nachází na chromosomu Xq28. Gen determinuje kinázu typu 1 asociovanou s receptorem pro IL-1 (z anglického interleukin-1 receptor associated kinase-1), serin-threonin protein kinázu, která reguluje mnoho drah jak vrozené, tak i adaptivní imunitní odpovědi. Po stimulaci interaguje s IL-1 receptorem. Má za následek IL-1 vyvolanou upregulaci transkripčního faktoru NF- κ B. V myším modelu SLE, Irak1 reguluje jaderný faktor NF- κ B přes TCR signalizaci a aktivaci TLR, stejně jako vyvolá aktivaci IFN- α a IFN- γ (Uematsu a kol. 2005). Oba typy interferonů jsou prokázány v abnormálním množství u SLE pacientů (Kim a kol. 1987). TLR rozeznávají mnoho chemických struktur specifických pro různé patogeny, např. nukleové kyseliny (Uematsu a kol. 2005). Je důležité aby TLR nerozpoznávaly nukleové kyseliny těla vlastní. Nukleové kyseliny rozpoznané TLR aktivují jak NF- κ B, který zahájí expresi prozánětlivých cytokinů, tak i vyvolá tvorbu interferonů. Přílišná aktivace NF- κ B v T lymfocytech má za následek expresi například IL-1, IL-6, IL-12 a TNF- α , a tím vyvolává zánět (shrnutí v Flesher a kol. 2010).

Za normálních okolností IRAK1 potlačuje aktivaci NF- κ B díky interakci s TRAF6 a inhibuje vrozenou imunitní odpověď. TRAF6 je důležitý pro přenos signálu mezi IRAK1 a NF- κ B. SNP byly nalezeny v exonech 11 – 13 u SLE pacientů, které korespondují s C1 doménou IRAK1 (Jacob a kol. 2009). Tato doména je zodpovědná za interakci s TRAF6. Chyby v těchto sekvencích mohou vést k nesprávné interakci s TRAF6, což by mohlo znamenat nadbytečnou aktivaci NF- κ B a vyvolání zánětu.

5 Závěr

Jednou z nejzkoumanější oblastí lidského genomu je bezpochyby MHC lokus. Geny *HLA-DRB* a *HLA-DQB* (náležící do této oblasti) kódují α a β řetězce glykoproteinů zodpovědných za vazbu autoantigenů a prezentaci $CD4^+$ T lymfocytům, které aktivují. Takto vznikající autoreaktivní T buňky unikají negativní selekci v brzlíku. T buněčná aktivace je ovlivňována také Lyp a CTLA4. Lyp620W potlačuje TCR signalizaci, což způsobuje poškození negativní selekce a eliminace potenciálních autoreaktivních T buněk v brzlíku (Vang a kol. 2005). Kostimulační molekula CTLA4 po navázání ligandu inhibuje aktivaci T lymfocytů (Krummel a Allison 1995). SNP ve vedoucí sekvenci CTLA4 redukuje expresi proteinu na membráně, kde dochází k nedostačující inhibici T buněčné aktivace, proliferaci Th lymfocytů a produkci prozánětlivých cytokinů (Mäurer a kol. 2002).

Expresí cytokinů produkovaných $CD4^+$ T buňkami nastartuje zánětlivou odpověď, která poškozuje tkáň. K prozánětlivým cytokinům řadíme TNF (HLA III. třídy). Jeho abnormální množství přehnaně aktivuje transkripční faktory a podporuje prozánětlivou reakci (van der Linden a kol. 2001, Lu a kol. 1997, Wilson a kol. 1993). Transkripci dalšího prozánětlivého cytokinu, IFN- γ , reguluje transkripční faktor STAT4. Pozměnění regulační funkce STAT4 vede k abnormální stimulaci transkripce IFN- γ , který je zodpovědný za diferenciaci Th1 buněk a zahájení zánětlivé reakce (Remmers a kol. 2007). Dalším regulátorem transkripce cytokinů je NF- κ B. Enzym A20 je považován za účinný inhibitor NF- κ B aktivace. Mutace v genu, jenž kóduje enzym, způsobí neschopnost proteinu inhibovat NF- κ B, který jako aktivovaný spustí transkripci prozánětlivých cytokinů (Adrianto a kol. 2011).

Mimo autoreaktivních T lymfocytů je kritickým bodem autoimunitních reakcí také vznik autoreaktivních B lymfocytů. Pokud obdrží pomoc od Th2 buněk a kostimulačních molekul, dojde k jejich aktivaci a produkci autoprotilátek. Kromě Lyp, která hraje roli i při BCR signalizaci a pronikání autoreaktivních B buněk do periferie, k aktivaci B lymfocytů přispívá signalizační molekula BANK1. Polymorfismy uvnitř *BANK1* mají za následek B buněčnou hyperprolyferaci a produkci autoprotilátek.

U systémových AO je typická tvorba imunokomplexů tvořených na antigen navázanými protilátkami. Imunokomplexy se mohou vázat na TLR, které aktivují transkripční faktory, např. IRF5. Změna regulační funkce IRF5 vede k nadměrné produkci IFN, maturaci DC, aktivaci autoreaktivních B buněk a produkci protilátek (Garnier a kol. 2007). Imunokomplexy rozpoznávají i Fc γ receptory, zaměřené na Fc části imunoglobulinů. Tyto receptory usnadňují interakci mezi efektorovou imunitní buňkou a na imunoglobulin navázanou protilátkou. SNP v genech kódujících receptory poruší vazbu k imunoglobulinu a dochází k pomalému odstraňování imunokomplexů, které se ukládají v tkáních a vyvolávají zánět (Willcocks a kol. 2008). Tyto imunitní dráhy jsou společné pro některé systémové AO a naznačují možnost obdobného mechanismu vzniku.

Specifické rizikové faktory pak určují odlišnosti mezi jednotlivými AO. Patří sem například *PADI4* a *TREX1*. Mutované jsou zodpovědné za tvorbu autoantigenů typických pro RA a SLE.

V posledních desetiletích bylo objeveno velké množství rizikových genetických faktorů způsobujících AO. Přesto zůstává ještě mnoho nezodpovězených otázek týkajících se mechanismů měnících imunitní odpověď. Pochopení změn v imunitních drahách je důležité pro časnou diagnózu, zvolení správné terapie a zkvalitnění života postižených pacientů.

6 Použitá literatura

- Adeegbe D, Matsutani T, Yang J, Altman NH, Malek TR. 2010. CD4+ CD25+ Foxp3+ T regulatory cells with limited T cell receptor diversity in control of autoimmunity. *J Immunol.* 184(1): 56–66.
- Adrianto I, Wen F, Templeton A, Wiley G, King JB, Lessard CJ, Bates JS, Hu Y, Kelly JA, Kaufman KM, Guthridge JM, Alarcón-Riquelme ME; BIOLUPUS and GENLES Networks, Anaya JM, Bae SC, Bang SY, Boackle SA, Brown EE, Petri MA, Gallant C, Ramsey-Goldman R, Reveille JD, Vila LM, Criswell LA, Edberg JC, Freedman BI, Gregersen PK, Gilkeson GS, Jacob CO, James JA, Kamen DL, Kimberly RP, Martin J, Merrill JT, Niewold TB, Park SY, Pons-Estel BA, Scofield RH, Stevens AM, Tsao BP, Vyse TJ, Langeveld CD, Harley JB, Moser KL, Webb CF, Humphrey MB, Montgomery CG, Gaffney PM. 2011. Association of a functional variant downstream of TNFAIP3 with systemic lupus erythematosus. *Nat Genet* 43(3): 253–258.
- Aguado B, Bahram S, Beck S, Campbell RD, Forbes SA, Geraghty D, Guillaudeux T, Hood L, Horton R, Inoko H, Janer M, Jasoni C, Madan A, Milne S, Neville M, Oka A, Qin S, Ribas-Despuig G, Rogers J, Rowen L, Shiina T, Spies T, Tamiya G, Tashiro H, Trowsdale J, Vu Q, Williams L, Yamazaki M. 1999. Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. *Nature* 401:921–923.
- Ahmed S, Ihara K, Kanemitsu S, Nakashima H, Otsuka T, Tsuzaka K, Takeuchi T, Hara T. 2001. Association of CTLA-4 but not CD28 gene polymorphisms with systemic lupus erythematosus in the Japanese population. *Rheumatology* 40(6):662–7.
- Allfrey VG, Faulkner R, Mirsky AE. 1964. Acetylation and methylation of histones and their possible role in the regulation of RNA synthesis. *Proc Natl Acad Sci* 51:786–94.
- Arnett FC, Gourh P, Shete S, Ahn CW, Honey RE, Agarwal SK, Tan FK, McNearney T, Fischbach M, Fritzler MJ, Mayes MD, Reveille JD. 2010. Major histocompatibility complex (MHC) class II alleles, haplotypes and epitopes which confer susceptibility or protection in systemic sclerosis: analyses in 1300 Caucasian, African-American and Hispanic cases and 1000 controls. *Ann Rheum Dis* 69(5):822–7.
- Ateş A, Kinikli G, Turgay M, Duman M. 2004. The levels of serum-soluble Fas in patients with rheumatoid arthritis and systemic sclerosis. *Clin Rheumatol* 23(5):421–5.
- Auger I, Roudier C, Guis S, Balandraud N, Roudier J. 2007. HLA-DRB1*0404 is strongly associated with anticalpastatin antibodies in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 66: 1588–1593.
- Auger I, Sebbag M, Vincent C, Balandraud N, Guis S, Nogueira L, Svensson B, Cantagrel A, Serre G, Roudier J. 2005. Influence of HLA-DR genes on the production of rheumatoid arthritis-specific autoantibodies to citrullinated fibrinogen. *Arthritis Rheum* 52(11):3424–32.
- Bade-Döding C, Theodossis A, Gras S, Kjer-Nielsen L, Eiz-Vesper B, Seltsam A, Huyton T, Rossjohn J, McCluskey J, Blasczyk R. 2011. The impact of human leukocyte antigen (HLA) micropolymorphism on ligand specificity within the HLA-B*41 allotypic family. *Haematologica* 96(1):110–8.
- de Bakker PI, McVean G, Sabeti PC, Miretti MM, Green T, Marchini J, Ke X, Monsuur AJ, Whittaker P, Delgado M, Morrison J, Richardson A, Walsh EC, Gao X, Galver L, Hart J, Hafler DA, Pericak-Vance M, Todd JA, Daly MJ, Trowsdale J, Wijmenga C, Vyse TJ, Beck S, Murray SS, Carrington M, Gregory S, Deloukas P, Rioux JD. 2006. A high-resolution HLA and SNP haplotype map for disease association studies in the extended human MHC. *Nature Genetics* 38(10): 1166–1172.
- Barnette T, Constantin A, Cantagrel A, Cambon-Thomsen A, Gourraud PA. 2008. New classification of HLA-DRB1 alleles in rheumatoid arthritis susceptibility: a combined analysis of worldwide samples. *Arthritis Res Ther* 10(1):R26.
- Barski A, Cuddapah S, Cui K, Roh TY, Schones DE, Wang Z, Wei G, Chepelev I, Zhao K. 2007. High-resolution profiling of histone methylations in the human genome. *Cell* 129(4):823–37.
- Beck S, Trowsdale J. 2000. The Human Major Histocompatibility Complex: Lessons from the DNA sequence. *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 1:117–137.

- Begovich AB, Carlton VE, Honigberg LA, Schrodi SJ, Chokkalingam AP, Alexander HC, Ardlie KG, Huang Q, Smith AM, Spoerke JM, Conn MT, Chang M, Chang SY, Saiki RK, Catanese JJ, Leong DU, Garcia VE, McAllister LB, Jeffery DA, Lee AT, Batliwalla F, Remmers E, Criswell LA, Seldin MF, Kastner DL, Amos CI, Sninsky JJ, Gregersen PK. 2004. A Missense Single-Nucleotide Polymorphism in a Gene Encoding a Protein Tyrosine Phosphatase (PTPN22) Is Associated with Rheumatoid Arthritis. *Am. J. Hum. Genet.* 75:330–337.
- Benhatchi K, Jochmanová I, Habalová V, Wagnerová H, Lazúrová I. 2011. CTLA4 exon1 A49G polymorphism in Slovak patients with rheumatoid arthritis and Hashimoto thyroiditis-results and the review of the literature. *Clin Rheumatol* 30(10):1319-24.
- Beretta L, Rueda B, Marchini M, Santaniello A, Simeón CP, Fonollosa V, Caronni M, Rios-Fernandez R, Carreira P, Rodriguez-Rodriguez L; Spanish Systemic Sclerosis Group, Moreno A, López-Nevot MA, Escalera A, González-Escribano MF, Martin J, Scorza R. 2012. Analysis of Class II human leucocyte antigens in Italian and Spanish systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 51(1):52-9.
- Broen J, Gourh P, Rueda B, Coenen M, Mayes M, Martin J, Arnett FC, Radstake TR. 2009. The FAS - 670A>G polymorphism influences susceptibility to systemic sclerosis phenotypes. *Arthritis Rheum* 60(12):3815-20.
- Brossart P, Bevan MJ. 1997. Presentation of exogenous protein antigens on major histocompatibility complex class I molecules by dendritic cells: pathway of presentation and regulation by cytokines. *Blood* 90(4):1594-9.
- Burn GL, Svensson L, Sanchez-Blanco C, Saini M, Cope AP. 2011. Why is PTPN22 a good candidate susceptibility gene for autoimmune disease? *FEBS Lett* 585(23):3689-98.
- Caillat-Zucman S. 2009. Molecular mechanisms of HLA association with autoimmune diseases. *Tissue Antigens* 73(1):1-8.
- Carlton VE, Hu X, Chokkalingam AP, Schrodi SJ, Brandon R, Alexander HC, Chang M, Catanese JJ, Leong DU, Ardlie KG, Kastner DL, Seldin MF, Criswell LA, Gregersen PK, Beasley E, Thomson G, Amos CI, Begovich AB. 2005. PTPN22 Genetic Variation: Evidence for Multiple Variants Associated with Rheumatoid Arthritis. *Am. J. Hum. Genet.* 77:567–581.
- Castaño-Rodríguez N, Diaz-Gallo LM, Pineda-Tamayo R, Rojas-Villarraga A, Anaya JM. 2008. Meta-analysis of HLA-DRB1 and HLA-DQB1 polymorphisms in Latin American patients with systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 7(4):322-30.
- Cloutier JF, Veillette A. 1999. Cooperative inhibition of T-cell antigen receptor signaling by a complex between a kinase and a phosphatase. *J Exp Med* 189(1):111-21.
- Cohen S, Dadi H, Shaoul E, Sharfe N, Roifman CM. 1999. Cloning and characterization of a lymphoid-specific, inducible human protein tyrosine phosphatase, Lyp. *Blood* 93(6):2013-24.
- Coornaert B, Carpentier I, Beyaert R. 2009. A20: Central Gatekeeper in Inflammation and Immunity. *J Biol Chem* 284(13):8217-21.
- Cunninghame Graham DS, Graham RR, Manku H, Wong AK, Whittaker JC, Gaffney PM, Moser KL, Rioux JD, Altshuler D, Behrens TW, Vyse TJ. 2008. Polymorphism at the TNF superfamily gene TNFSF4 confers susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Nat Genet* 40(1):83-9.
- Dausset J. 1981. The major histocompatibility complex in man. *Science* 213(4515):1469-74.
- Dengjel J, Schoor O, Fischer R, Reich M, Kraus M, Müller M, Kreymborg K, Altenberend F, Brandenburg J, Kalbacher H, Brock R, Driessen C, Rammensee HG, Stevanovic S. 2005. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(22):7922-7.
- Diaz-Gallo LM, Gourh P, Broen J, Simeon C, Fonollosa V, Ortego-Centeno N, Agarwal S, Vonk MC, Coenen M, Riemekasten G, Hunzelmann N, Hesselstrand R, Tan FK, Reveille JD, Assassi S, García-Hernandez FJ, Carreira P, Camps MT, Fernandez-Nebro A, de la Peña PG, Nearney T, Hilda D, González-Gay MA, Airo P, Beretta L, Scorza R, Herrick A, Worthington J, Pros A, Gómez-Gracia I, Trapiella L, Espinosa G, Castellvi I, Witte T, de Keyser F, Vanthuyne M, Mayes MD, Radstake TR, Arnett FC, Martin J, Rueda B. 2011. Analysis of the influence of PTPN22 gene polymorphisms in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 70(3): 454–62.
- Dieudé P, Wipff J, Guedj M, Ruiz B, Melchers I, Hachulla E, Riemekasten G, Diot E, Hunzelmann N, Sibilia J, Tiev K, Mouthon L, Cracowski JL, Carpentier PH, Distler J, Amoura Z, Tarner I, Avouac J, Meyer O, Kahan A, Boileau C, Allanore Y. 2009. BANK1 is a genetic risk factor

- for diffuse cutaneous systemic sclerosis and has additive effects with IRF5 and STAT4. *Arthritis Rheum* 60(11):3447-54.
- Dziankowska-Bartkowiak B, Waszczykowska E, Zalewska A, Sysa-Jedrzejowska A. 2003. Evaluation of caspase 1 and sFas serum levels in patients with systemic sclerosis: correlation with lung dysfunction, joint and bone involvement. *Mediators Inflamm* 12(6):339-43.
- Elsby LM, Orozco G, Denton J, Worthington J, Ray DW, Donn RP. 2010. Functional evaluation of TNFAIP3 (A20) in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 28(5):708-14.
- van Endert PM. 1999. Genes regulating MHC class I processing of antigen. *Curr Opin Immunol* 11(1):82-8.
- Fan Y, Li LH, Pan HF, Tao JH, Sun ZQ, Ye DQ. 2010. Association of ITGAM polymorphism with systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 25(3):271-5.
- Farres MN, Al-Zifzaf DS, Aly AA, Abd Raboh NM. 2011. OX40/OX40L in systemic lupus erythematosus: Association with disease activity and lupus nephritis. *Ann Saudi Med* 31(1):29-34.
- Ferreiros-Vidal I, Gomez-Reino JJ, Barros F, Carracedo A, Carreira P, Gonzalez-Escribano F, Liz M, Martin J, Ordi J, Vicario JL, Gonzalez A. 2004. Association of PDCD1 with susceptibility to systemic lupus erythematosus: evidence of population-specific effects. *Arthritis Rheum* 50(8):2590-7.
- Flesher DL, Sun X, Behrens TW, Graham RR, Criswell LA. 2010. Recent advances in the genetics of systemic lupus erythematosus. *Expert Rev Clin Immunol* 6(3):461-79.
- Freed BM, Schuyler RP, Aubrey MT. 2011. Association of the HLA-DRB1 Epitope LA With Rheumatoid Arthritis and Citrullinated Vimentin Binding. *Arthritis a Rheumatism* 63(12):3733-3739.
- Fujimura T, Hirose S, Jiang Y, Kodera S, Ohmuro H, Zhang D, Hamano Y, Ishida H, Furukawa S, Shirai T. 1998. Dissection of the effects of tumor necrosis factor-alpha and class II gene polymorphisms within the MHC on murine systemic lupus erythematosus (SLE). *Int Immunol* 10(10):1467-72.
- van Gaalen FA, van Aken J, Huizinga TW, Schreuder GM, Breedveld FC, Zanelli E, van Venrooij WJ, Verweij CL, Toes RE, de Vries RR. 2004. Association Between HLA Class II Genes and Autoantibodies to Cyclic Citrullinated Peptides (CCPs) Influences the Severity of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis and Rheumatism* 50(7):2113–2121.
- Garnier S, Dieudé P, Michou L, Barbet S, Tan A, Lasbleiz S, Bardin T, Prum B, Cornélis F. 2007. IRF5 rs2004640-T allele, the new genetic factor for systemic lupus erythematosus, is not associated with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 66(6):828-31.
- Goldstein D. B. 2001. Islands of linkage disequilibrium. *Nature genetics* 29: 109-111.
- Gomes Bde A, Santhiago MR, Magalhães P, Kara-Junior N, Azevedo MN, Moraes HV Jr. 2011. Ocular findings in patients with systemic sclerosis. *Clinics* 66(3):379-385.
- Gough SCL, Simmonds MJ. 2007. The HLA Region and Autoimmune Disease: Associations and Mechanisms of Action. *Curr Genomics* 8(7):453-65.
- Gourh P, Agarwal SK, Divecha D, Assassi S, Paz G, Arora-Singh RK, Reveille JD, Shete S, Mayes MD, Arnett FC, Tan FK. 2009. Polymorphisms in TBX21 and STAT4 increase the risk of systemic sclerosis: evidence of possible gene-gene interaction and alterations in Th1/Th2 cytokines. *Arthritis Rheum* 60(12):3794-806.
- Gourh P, Agarwal SK, Martin E, Divecha D, Rueda B, Bunting H, Assassi S, Paz G, Shete S, McNearney T, Draeger H, Reveille JD, Radstake TR, Simeon CP, Rodriguez L, Vicente E, Gonzalez-Gay MA, Mayes MD, Tan FK, Martin J, Arnett FC. 2010. Association of the C8orf13-BLK region with systemic sclerosis in North-American and European populations. *J Autoimmun* 34(2):155-62.
- Gourh P, Arnett FC, Tan FK, Assassi S, Divecha D, Paz G, McNearney T, Draeger H, Reveille JD, Mayes MD, Agarwal SK. 2010. Association of TNFSF4 (OX40L) polymorphisms with susceptibility to systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 69(3):550-5.
- Graham RR, Ortmann W, Rodine P, Espe K, Langefeld C, Lange E, Williams A, Beck S, Kyogoku C, Moser K, Gaffney P, Gregersen PK, Criswell LA, Harley JB, Behrens TW. 2007. Specific combinations of HLA-DR2 and DR3 class II haplotypes contribute graded risk for disease susceptibility and autoantibodies in human SLE. *Eur J Hum Genet* 15(8):823-30.

- Graham RR, Ortmann WA, Langefeld CD, Jawaheer D, Selby SA, Rodine PR, Baechler EC, Rohlfs KE, Shark KB, Espe KJ, Green LE, Nair RP, Stuart PE, Elder JT, King RA, Moser KL, Gaffney PM, Bugawan TL, Erlich HA, Rich SS, Gregersen PK, Behrens TW. 2002. Visualizing human leukocyte antigen class II risk haplotypes in human systemic lupus erythematosus. *Am J Hum Genet* 71(3):543-53.
- Guan M, Yu B, Wan J, Zhang X, Wu Z, Zhong Q, Zhang W, Zou H. 2011. Identification of BANK1 polymorphisms by unlabelled probe high resolution melting: association with systemic lupus erythematosus susceptibility and autoantibody production in Han Chinese. *Rheumatology (Oxford)* 50(3):473-80.
- Guo L, Deshmukh H, Lu R, Vidal GS, Kelly JA, Kaufman KM, Dominguez N, Klein W, Kim-Howard X, Bruner GR, Scofield RH, Moser KL, Gaffney PM, Dozmorov IM, Gilkeson GS, Wakeland EK, Li QZ, Langefeld CD, Marion MC, Williams AH, Divers J, Alarcón GS, Brown EE, Kimberly RP, Edberg JC, Ramsey-Goldman R, Reveille JD, McGwin G Jr, Vilá LM, Petri MA, Vyse TJ, Merrill JT, James JA, Nath SK, Harley JB, Guthridge JM. 2009. Replication of the BANK1 genetic association with systemic lupus erythematosus in a European-derived population. *Genes Immun* 10(5):531-8.
- Han S, Kim-Howard X, Deshmukh H, Kamatani Y, Viswanathan P, Guthridge JM, Thomas K, Kaufman KM, Ojwang J, Rojas-Villarraga A, Baca V, Orozco L, Rhodes B, Choi CB, Gregersen PK, Merrill JT, James JA, Gaffney PM, Moser KL, Jacob CO, Kimberly RP, Harley JB, Bae SC, Anaya JM, Alarcón-Riquelme ME, Matsuda K, Vyse TJ, Nath SK. 2009. Evaluation of imputation-based association in and around the integrin- α -M (ITGAM) gene and replication of robust association between a non-synonymous functional variant within ITGAM and systemic lupus erythematosus (SLE). *Hum Mol Genet* 18(6):1171-80.
- Holoshitz J. 2010. The Rheumatoid Arthritis HLA-DRB1 Shared Epitope. *Curr Opin Rheumatol* 22(3): 293-298.
- Hom G, Graham RR, Modrek B, Taylor KE, Ortmann W, Garnier S, Lee AT, Chung SA, Ferreira RC, Pant PV, Ballinger DG, Kosoy R, Demirci FY, Kamboh MI, Kao AH, Tian C, Gunnarsson I, Bengtsson AA, Rantapää-Dahlqvist S, Petri M, Manzi S, Seldin MF, Rönnblom L, Syvänen AC, Criswell LA, Gregersen PK, Behrens TW. 2008. Association of systemic lupus erythematosus with C8orf13-BLK and ITGAM-ITGAX. *N Engl J Med* 358(9):900-9.
- Hong L, Schroth GP, Matthews HR, Yau P, Bradbury EM. 1993. Studies of the DNA binding properties of histone H4 amino terminus. Thermal denaturation studies reveal that acetylation markedly reduces the binding constant of the H4 "tail" to DNA. *J Biol Chem* 268(1):305-14.
- Huang QR, Morris D, Manolios N. 1997. Identification and characterization of polymorphisms in the promoter region of the human Apo-1/Fas (CD95) gene. *Mol Immunol* 34(8-9):577-82.
- Chang YK, Yang W, Zhao M, Mok CC, Chan TM, Wong RW, Lee KW, Mok MY, Wong SN, Ng IO, Lee TL, Ho MH, Lee PP, Wong WH, Lau CS, Sham PC, Lau YL. 2009. Association of BANK1 and TNFSF4 with systemic lupus erythematosus in Hong Kong Chinese. *Genes Immun* 10(5):414-20.
- Chatila TA. 2009. Regulatory T cells: key players in tolerance and autoimmunity. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 38(2): 265- 273.
- Chitnis S, Monteiro J, Glass D, Apatoff B, Salmon J, Concannon P, Gregersen PK. 2000. The role of X-chromosome inactivation in female predisposition to autoimmunity. *Arthritis Rev* 2(5):399-406.
- Ito I, Kawaguchi Y, Kawasaki A, Hasegawa M, Ohashi J, Kawamoto M, Fujimoto M, Takehara K, Sato S, Hara M, Tsuchiya N. 2010. Association of the FAM167A-BLK region with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 62(3):890-5.
- Ito I, Kawasaki A, Ito S, Hayashi T, Goto D, Matsumoto I, Tsutsumi A, Hom G, Graham RR, Takasaki Y, Hashimoto H, Ohashi J, Behrens TW, Sumida T, Tsuchiya N. 2009. Replication of the association between the C8orf13-BLK region and systemic lupus erythematosus in a Japanese population. *Arthritis Rheum* 60(2):553-8.
- Iwamoto T, Ikari K, Nakamura T, Kuwahara M, Toyama Y, Tomatsu T, Momohara S, Kamatani N. 2006. Association between PADI4 and rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Rheumatology* 45(7):804-7.

- Jacob CO, Zhu J, Armstrong DL, Yan M, Han J, Zhou XJ, Thomas JA, Reiff A, Myones BL, Ojwang JO, Kaufman KM, Klein-Gitelman M, McCurdy D, Wagner-Weiner L, Silverman E, Ziegler J, Kelly JA, Merrill JT, Harley JB, Ramsey-Goldman R, Vila LM, Bae SC, Vyse TJ, Gilkeson GS, Gaffney PM, Moser KL, Langefeld CD, Zidovetzki R, Mohan C. 2009. Identification of IRAK1 as a risk gene with critical role in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106(15):6256-61.
- Jäger A, Kuchroo VK. 2010. Effector and regulatory T cell subsets in autoimmunity and
- Javierre BM, Hernando H, Ballestar E. 2011. Environmental triggers and epigenetic deregulation in autoimmune disease. *Discov Med* 12(67):535-45.
- Karassa FB, Trikalinos TA, Ioannidis JP. 2002. Role of the Fcγ receptor IIa polymorphism in susceptibility to systemic lupus erythematosus and lupus nephritis: a meta-analysis. *Arthritis Rheum* 46(6):1563-71.
- Kavanagh D, Spitzer D, Kothari PH, Shaikh A, Liszewski MK, Richards A, Atkinson JP. 2008. New roles for the major human 3'-5' exonuclease TREX1 in human disease. *Cell Cycle* 7(12):1718-25.
- Kawasaki A, Ito I, Hikami K, Ohashi J, Hayashi T, Goto D, Matsumoto I, Ito S, Tsutsumi A, Koga M, Arinami T, Graham RR, Hom G, Takasaki Y, Hashimoto H, Behrens TW, Sumida T, Tsuchiya N. 2008. Role of STAT4 polymorphisms in systemic lupus erythematosus in a Japanese population: a case-control association study of the STAT1-STAT4 region. *Arthritis Res Ther* 10(5):R113.
- Kawasaki A, Ito I, Ito S, Hayashi T, Goto D, Matsumoto I, Takasaki Y, Hashimoto H, Sumida T, Tsuchiya N. 2010. Association of TNFAIP3 Polymorphism with Susceptibility to Systemic Lupus Erythematosus in a Japanese Population. *J Biomed Biotechnol* 2010:207578.
- Kim T, Kanayama Y, Negoro N, Okamura M, Takeda T, Inoue T. 1987. Serum levels of interferons in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol* 70(3):562-9.
- Kim-Howard X, Maiti AK, Anaya JM, Bruner GR, Brown E, Merrill JT, Edberg JC, Petri MA, Reveille JD, Ramsey-Goldman R, Alarcon GS, Vyse TJ, Gilkeson G, Kimberly RP, James JA, Guthridge JM, Harley JB, Nath SK. 2010. ITGAM coding variant (rs1143679) influences the risk of renal disease, discoid rash and immunological manifestations in patients with systemic lupus erythematosus with European ancestry. *Ann Rheum Dis* 69(7):1329-32.
- Koene HR, Kleijer M, Swaak AJ, Sullivan KE, Bijl M, Petri MA, Kallenberg CG, Roos D, von dem Borne AE, de Haas M. 1998. The Fc γRIIIA-158F allele is a risk factor for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 41(10):1813-8.
- Kolárik C, Klinger R, Hofmann-Apitius M. 2009. Identification of histone modifications in biomedical text for supporting epigenomic research. *BMC Bioinformatics* 10 Suppl 1:S28.
- Kono H, Kyogoku C, Suzuki T, Tsuchiya N, Honda H, Yamamoto K, Tokunaga K, Honda Z. 2005. FcγRIIb Ile232Thr transmembrane polymorphism associated with human systemic lupus erythematosus decreases affinity to lipid rafts and attenuates inhibitory effects on B cell receptor signaling. *Hum Mol Genet* 14(19):2881-92.
- Krummel MF, Allison JP. 1995. CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation. *J Exp Med* 182(2):459-65.
- Kyogoku C, Langefeld CD, Ortmann WA, Lee A, Selby S, Carlton VE, Chang M, Ramos P, Baechler EC, Batliwalla FM, Novitzke J, Williams AH, Gillett C, Rodine P, Graham RR, Ardlie KG, Gaffney PM, Moser KL, Petri M, Begovich AB, Gregersen PK, Behrens TW. 2004. Genetic Association of the R620W Polymorphism of Protein Tyrosine Phosphatase PTPN22 with Human SLE. *Am J Hum Genet* 75(3):504-7.
- Lee YH, Rho YH, Choi SJ, Ji JD, Song GG. 2007. PADI4 polymorphisms and rheumatoid arthritis susceptibility: a meta-analysis. *Rheumatol Int* 27(9):827-33.
- Lehtinen DA, Harvey S, Mulcahy MJ, Hollis T, Perrino FW. 2008. The TREX1 double-stranded DNA degradation activity is defective in dominant mutations associated with autoimmune disease. *J Biol Chem* 283(46):31649-56.
- Lin RH, Mamula MJ, Hardin JA, Janeway CA Jr. 1991. Induction of autoreactive B cells allows priming of autoreactive T cells. *J Exp Med* 173(6):1433-9.
- van der Linden MW, van der Slik AR, Zanelli E, Giphart MJ, Pieterman E, Schreuder GM, Westendorp RG, Huizinga TW. 2001. Six microsatellite markers on the short arm of

- chromosome 6 in relation to HLA-DR3 and TNF-308A in systemic lupus erythematosus. *Genes Immun* 2(7):373-80.
- Lu LY, Ding WZ, Fici D, Deulofeut R, Cheng HH, Cheu CC, Sung PK, Schur PH, Fraser PA. 1997. Molecular analysis of major histocompatibility complex allelic associations with systemic lupus erythematosus in Taiwan. *Arthritis Rheum* 40(6):1138-45.
- Martín-Villa JM, Martínez-Laso J, Moreno-Pelayo MA, Castro-Panete MJ, Martínez-Quiles N, Alvarez M, de Juan MD, Gómez-Reino JJ, Arnaiz-Villena A. 1998. Differential contribution of HLA-DR, DQ, and TAP2 alleles to systemic lupus erythematosus susceptibility in Spanish patients: role of TAP2*01 alleles in Ro autoantibody production. *Ann Rheum Dis* 57(4):214-9.
- Mäurer M, Loserth S, Kolb-Mäurer A, Ponath A, Wiese S, Kruse N, Rieckmann P. 2002. A polymorphism in the human cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 (CTLA4) gene (exon 1 +49) alters T-cell activation. *Immunogenetics* 54(1):1-8.
- McHugh NJ, Owen P, Cox B, Dunphy J, Welsh K. 2006. MHC class II, tumour necrosis factor alpha, and lymphotoxin alpha gene haplotype associations with serological subsets of systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 65(4):488-94.
- Menard L, Saadoun D, Isnardi I, Ng YS, Meyers G, Massad C, Price C, Abraham C, Motaghedi R, Buckner JH, Gregersen PK, Meffre E. 2011. The PTPN22 allele encoding an R620W variant interferes with the removal of developing autoreactive B cells in humans. *J Clin Invest* 121(9):3635-44.
- Meyer D, Single RM, Mack SJ, Erlich HA, Thomson G. 2006. Signatures of demographic history and natural selection in the human major histocompatibility complex Loci. *Genetics* 173(4): 2121–2142.
- Misko IS, Cross SM, Khanna R, Elliott SL, Schmidt C, Pye SJ, Silins SL. 1999. Crossreactive recognition of viral, self, and bacterial peptide ligands by human class I-restricted cytotoxic T lymphocyte clonotypes: implications for molecular mimicry in autoimmune disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96(5):2279-84.
- Möller E. 1998. Mechanisms for induction of autoimmunity in humans. *Acta Paediatr Suppl* 424:16-20.
- Morgan AW, Barrett JH, Griffiths B, Subramanian D, Robinson JI, Keyte VH, Ali M, Jones EA, Old RW, Ponchel F, Boylston AW, Situnayake RD, Markham AF, Emery P, Isaacs JD. 2006. Analysis of Fcγ receptor haplotypes in rheumatoid arthritis: FCGR3A remains a major susceptibility gene at this locus, with an additional contribution from FCGR3B. *Arthritis Res Ther* 8(1):R5.
- Morgan AW, Robinson JI, Conaghan PG, Martin SG, Hensor EM, Morgan MD, Steiner L, Erlich HA, Gooi HC, Barton A, Worthington J, Emery P. 2010. Evaluation of the rheumatoid arthritis susceptibility loci HLA-DRB1, PTPN22, OLIG3/TNFAIP3, STAT4 and TRAF1/C5 in an inception cohort. *Arthritis Res Ther* 12(2):R57.
- Mungall AJ, Palmer SA, Sims SK, Edwards CA, Ashurst JL, Wilming L, Jones MC, Horton R, Hunt SE, Scott CE, Gilbert JG, Clamp ME, Bethel G, Milne S, Ainscough R, Almeida JP, Ambrose KD, Andrews TD, Ashwell RI, Babbage AK, Bagguley CL, Bailey J, Banerjee R, Barker DJ, Barlow KF, Bates K, Beare DM, Beasley H, Beasley O, Bird CP, Blakey S, Bray-Allen S, Brook J, Brown AJ, Brown JY, Burford DC, Burrill W, Burton J, Carder C, Carter NP, Chapman JC, Clark SY, Clark G, Clee CM, Clegg S, Cobley V, Collier RE, Collins JE, Colman LK, Corby NR, Coville GJ, Culley KM, Dhami P, Davies J, Dunn M, Earthrowl ME, Ellington AE, Evans KA, Faulkner L, Francis MD, Frankish A, Frankland J, French L, Garner P, Garnett J, Ghori MJ, Gilby LM, Gillson CJ, Glithero RJ, Grafham DV, Grant M, Gribble S, Griffiths C, Griffiths M, Hall R, Halls KS, Hammond S, Harley JL, Hart EA, Heath PD, Heathcote R, Holmes SJ, Howden PJ, Howe KL, Howell GR, Huckle E, Humphray SJ, Humphries MD, Hunt AR, Johnson CM, Joy AA, Kay M, Keenan SJ, Kimberley AM, King A, Laird GK, Langford C, Lawlor S, Leongamornlert DA, Liversha M, Lloyd CR, Lloyd DM, Loveland JE, Lovell J, Martin S, Mashregi-Mohammadi M, Maslen GL, Matthews L, McCann OT, McLaren SJ, McLay K, McMurray A, Moore MJ, Mullikin JC, Niblett D, Nickerson T, Novik KL, Oliver K, Overton-Larty EK, Parker A, Patel R, Pearce AV, Peck AI, Phillimore B, Phillips S, Plumb RW, Porter KM, Ramsey Y, Ranby SA, Rice CM, Ross MT, Searle SM, Sehra HK, Sheridan E, Skuce CD, Smith S, Smith M, Spraggon L, Squares SL,

- Steward CA, Sycamore N, Tamlyn-Hall G, Tester J, Theaker AJ, Thomas DW, Thorpe A, Tracey A, Tromans A, Tubby B, Wall M, Wallis JM, West AP, White SS, Whitehead SL, Whittaker H, Wild A, Willey DJ, Wilmer TE, Wood JM, Wray PW, Wyatt JC, Young L, Younger RM, Bentley DR, Coulson A, Durbin R, Hubbard T, Sulston JE, Dunham I, Rogers J, Beck S. 2003. The DNA sequence and analysis of human chromosome 6. *Nature* 425(6960):805-11.
- Namjou B, Kothari PH, Kelly JA, Glenn SB, Ojwang JO, Adler A, Alarcón-Riquelme ME, Gallant CJ, Boackle SA, Criswell LA, Kimberly RP, Brown E, Edberg J, Stevens AM, Jacob CO, Tsao BP, Gilkeson GS, Kamen DL, Merrill JT, Petri M, Goldman RR, Vila LM, Anaya JM, Niewold TB, Martin J, Pons-Estel BA, Sabio JM, Callejas JL, Vyse TJ, Bae SC, Perrino FW, Freedman BI, Scofield RH, Moser KL, Gaffney PM, James JA, Langefeld CD, Kaufman KM, Harley JB, Atkinson JP. 2011. Evaluation of the TREX1 gene in a large multi-ancestral lupus cohort. *Genes Immun* 12(4):270-9.
- Nath SK, Han S, Kim-Howard X, Kelly JA, Viswanathan P, Gilkeson GS, Chen W, Zhu C, McEver RP, Kimberly RP, Alarcón-Riquelme ME, Vyse TJ, Li QZ, Wakeland EK, Merrill JT, James JA, Kaufman KM, Guthridge JM, Harley JB. 2008. A nonsynonymous functional variant in integrin- α (M) (encoded by ITGAM) is associated with systemic lupus erythematosus. *Nat Genet* 40(2):152-4.
- Nika K, Tautz L, Arimura Y, Vang T, Williams S, Mustelin T. 2007. A weak Lck tail bite is necessary for Lck function in T cell antigen receptor signaling. *J Biol Chem* 282(49):36000-9.
- Pickering MC, Walport MJ. 2000. Links between complement abnormalities and systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 39(2):133-41.
- Prodeus AP, Goerg S, Shen LM, Pozdnyakova OO, Chu L, Alicot EM, Goodnow CC, Carroll MC. 1998. A critical role for complement in maintenance of self-tolerance. *Immunity* 9(5):721-31.
- Qin, J., Mamotte Qin J, Mamotte C, Cockett NE, Wetherall JD, Groth DM. 2008. A map of the class III region of the sheep major histocompatibility complex. *BMC Genomics* 9:409.
- Ramos PS, Brown EE, Kimberly RP, Langefeld CD. 2010. Genetic factors predisposing to systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Semin Nephrol* 30(2): 164-176.
- Ramos PS, Criswell LA, Moser KL, Comeau ME, Williams AH, Pajewski NM, Chung SA, Graham RR, Zidovetzki R, Kelly JA, Kaufman KM, Jacob CO, Vyse TJ, Tsao BP, Kimberly RP, Gaffney PM, Alarcón-Riquelme ME, Harley JB, Langefeld CD. 2011. A comprehensive analysis of shared loci between systemic lupus erythematosus (SLE) and sixteen autoimmune diseases reveals limited genetic overlap. *PLoS Genet* 7(12):e1002406.
- Ramos PS, Langefeld CD, Bera LA, Gaffney PM, Noble JA, Moser KL. 2009. Variation in the ATP-binding cassette transporter 2 gene is a separate risk factor for systemic lupus erythematosus within the MHC. *Genes Immun* 10(4):350-5.
- Reboul CF, Meyer GR, Porebski BT, Borg NA, Buckle AM. 2012. Epitope flexibility and dynamic footprint revealed by molecular dynamics of a pMHC-TCR complex. *PLoS Comput Biol* 8(3):e1002404.
- Remmers EF, Plenge RM, Lee AT, Graham RR, Hom G, Behrens TW, de Bakker PI, Le JM, Lee HS, Batliwalla F, Li W, Masters SL, Booty MG, Carulli JP, Padyukov L, Alfredsson L, Klareskog L, Chen WV, Amos CI, Criswell LA, Seldin MF, Kastner DL, Gregersen PK. 2007. STAT4 and the risk of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 357(10):977-86.
- Reveille JD, Alarcón GS, Fowler SE, Pillemer SR, Neuner R, Clegg DO, Mikhail IS, Trentham DE, Leisen JC, Bluhm G, Cooper SM, Duncan H, Tuttleman M, Heyse SP, Sharp JT, Tilley B. 1996. HLA-DRB1 genes and disease severity in rheumatoid arthritis. The MIRA Trial Group. Minocycline in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 39(11):1802-7.
- Rodríguez MR, Núñez-Roldán A, Aguilar F, Valenzuela A, García A, González-Escribano MF. 2002. Association of the CTLA4 3' untranslated region polymorphism with the susceptibility to rheumatoid arthritis. *Hum Immunol* 63(1):76-81.
- Rood MJ, van Krugten MV, Zanelli E, van der Linden MW, Keijsers V, Schreuder GM, Verduyn W, Westendorp RG, de Vries RR, Breedveld FC, Verweij CL, Huizinga TW. 2000. TNF-308A and HLA-DR3 alleles contribute independently to susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 43(1):129-34.

- Rueda B, Gourh P, Broen J, Agarwal SK, Simeon C, Ortego-Centeno N, Vonk MC, Coenen M, Riemekasten G, Hunzelmann N, Hesselstrand R, Tan FK, Reveille JD, Assassi S, Garcia-Hernandez FJ, Carreira P, Camps M, Fernandez-Nebro A, Garcia de la Peña P, Nearney T, Hilda D, González-Gay MA, Airo P, Beretta L, Scorza R, Radstake TR, Mayes MD, Arnett FC, Martin J. 2010. BANK1 functional variants are associated with susceptibility to diffuse systemic sclerosis in Caucasians. *Ann Rheum Dis* 69(4):700-5.
- Rullo OJ, Woo JM, Wu H, Hoftman AD, Maranian P, Brahn BA, McCurdy D, Cantor RM, Tsao BP. 2010. Association of IRF5 polymorphisms with activation of the interferon alpha pathway. *Ann Rheum Dis* 69(3):611-7.
- Seldin MF, Shigeta R, Laiho K, Li H, Saila H, Savolainen A, Leirisalo-Repo M, Aho K, Tuomilehto-Wolf E, Kaarela K, Kauppi M, Alexander HC, Begovich AB, Tuomilehto J. 2005. Finnish case-control and family studies support PTPN22 R620W polymorphism as a risk factor in rheumatoid arthritis, but suggest only minimal or no effect in juvenile idiopathic arthritis. *Genes Immun* 6(8):720-2.
- Shimane K, Kochi Y, Horita T, Ikari K, Amano H, Hirakata M, Okamoto A, Yamada R, Myouzen K, Suzuki A, Kubo M, Atsumi T, Koike T, Takasaki Y, Momohara S, Yamanaka H, Nakamura Y, Yamamoto K. 2010. The association of a nonsynonymous single-nucleotide polymorphism in TNFAIP3 with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis in the Japanese population. *Arthritis Rheum* 62(2):574-9.
- Schifferli JA, Steiger G, Paccaud JP, Sjöholm AG, Hauptmann G. 1986. Difference in the biological properties of the two forms of the fourth component of human complement (C4). *Clin Exp Immunol* 63(2):473-7.
- Schotte H, Willeke P, Tidow N, Domschke W, Assmann G, Gaubitz M, Schlüter B. 2005. Extended haplotype analysis reveals an association of TNF polymorphisms with susceptibility to systemic lupus erythematosus beyond HLA-DR3. *Scand J Rheumatol* 34(2):114-21.
- Sigurdsson S, Nordmark G, Garnier S, Grundberg E, Kwan T, Nilsson O, Eloranta ML, Gunnarsson I, Svenungsson E, Sturfelt G, Bengtsson AA, Jönsen A, Truedsson L, Rantapää-Dahlqvist S, Eriksson C, Alm G, Göring HH, Pastinen T, Syvänen AC, Rönnblom L. 2008. A risk haplotype of STAT4 for systemic lupus erythematosus is over-expressed, correlates with anti-dsDNA and shows additive effects with two risk alleles of IRF5. *Hum Mol Genet* 17(18):2868-76.
- Sigurdsson S, Nordmark G, Göring HH, Lindroos K, Wiman AC, Sturfelt G, Jönsen A, Rantapää-Dahlqvist S, Möller B, Kere J, Koskenmies S, Widén E, Eloranta ML, Julkunen H, Kristjansdóttir H, Steinsson K, Alm G, Rönnblom L, Syvänen AC. 2005. Polymorphisms in the tyrosine kinase 2 and interferon regulatory factor 5 genes are associated with systemic lupus erythematosus. *Am J Hum Genet* 76(3):528-37.
- Sigurdsson S, Padyukov L, Kurreeman FA, Liljedahl U, Wiman AC, Alfredsson L, Toes R, Rönnelid J, Klareskog L, Huizinga TW, Alm G, Syvänen AC, Rönnblom L. 2007. Association of a haplotype in the promoter region of the interferon regulatory factor 5 gene with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 56(7):2202-10.
- Simmonds MJ, Gough SC. 2005. Genetic insights into disease mechanisms of autoimmunity. *British Medical Bulletin* 71: 93-113.
- Singh R, Pradhan V, Patwardhan M, Ghosh K. 2009. APO-1/Fas gene: Structural and functional characteristics in systemic lupus erythematosus and other autoimmune diseases. *Indian J Hum Genet*. 2009 Sep;15(3):98-102.
- Song XT, Evel-Kabler K, Shen L, Rollins L, Huang XF, Chen SY. 2008. A20 is an antigen presentation attenuator, and its inhibition overcomes regulatory T cell-mediated suppression. *Nat Med* 14(3):258-65.
- Su K, Wu J, Edberg JC, Li X, Ferguson P, Cooper GS, Langefeld CD, Kimberly RP. 2004. A promoter haplotype of the immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif-bearing FcγRIIb alters receptor expression and associates with autoimmunity. I. Regulatory FCGR2B polymorphisms and their association with systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 172(11):7186-91.

- Suárez A, López P, Mozo L, Gutiérrez C. 2005. Differential effect of IL10 and TNF{alpha} genotypes on determining susceptibility to discoid and systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 64(11):1605-10.
- Suzuki A, Yamada R, Chang X, Tokuhira S, Sawada T, Suzuki M, Nagasaki M, Nakayama-Hamada M, Kawaida R, Ono M, Ohtsuki M, Furukawa H, Yoshino S, Yukioka M, Tohma S, Matsubara T, Wakitani S, Teshima R, Nishioka Y, Sekine A, Iida A, Takahashi A, Tsunoda T, Nakamura Y, Yamamoto K. 2003. Functional haplotypes of PADI4, encoding citrullinating enzyme peptidylarginine deiminase 4, are associated with rheumatoid arthritis. *Nat Genet* 34(4):395-402.
- Taylor KE, Remmers EF, Lee AT, Ortmann WA, Plenge RM, Tian C, Chung SA, Nititham J, Hom G, Kao AH, Demirci FY, Kamboh MI, Petri M, Manzi S, Kastner DL, Seldin MF, Gregersen PK, Behrens TW, Criswell LA. 2008. Specificity of the STAT4 Genetic Association for Severe Disease Manifestations of Systemic Lupus Erythematosus. *PLoS Genet* 4(5):e1000084.
- Thorburn CM, Prokunina-Olsson L, Sterba KA, Lum RF, Seldin MF, Alarcon-Riquelme ME, Criswell LA. 2007. Association of PDCD1 genetic variation with risk and clinical manifestations of systemic lupus erythematosus in a multiethnic cohort. *Genes Immun* 8(4):279-87.
- tissue inflammation. *Scand J Immunol* 72(3): 173-184.
- Toussiot E, Gaugler B, Bouhaddi M, Nguyen NU, Saas P, Dumoulin G. 2010. Elevated adiponectin serum levels in women with systemic autoimmune diseases. *Mediators Inflamm* 2010:938408.
- Tsuchiya N, Kawasaki A, Tsao BP, Komata T, Grossman JM, Tokunaga K. 2001. Analysis of the association of HLA-DRB1, TNFalpha promoter and TNFR2 (TNFRSF1B) polymorphisms with SLE using transmission disequilibrium test. *Genes Immun* 2(6):317-22.
- Uematsu S, Sato S, Yamamoto M, Hirotani T, Kato H, Takeshita F, Matsuda M, Coban C, Ishii KJ, Kawai T, Takeuchi O, Akira S. 2005. Interleukin-1 receptor-associated kinase-1 plays an essential role for Toll-like receptor (TLR)7- and TLR9-mediated interferon-{alpha} induction. *J Exp Med* 201(6):915-23.
- Ujvari B, Belov K. 2011. Major histocompatibility complex (MHC) markers in conservation biology. *International Journal of Molecular Science* 12: 5168-5186.
- Vaidya B, Pearce SH, Charlton S, Marshall N, Rowan AD, Griffiths ID, Kendall-Taylor P, Cawston TE, Young-Min S. 2002. An association between the CTLA4 exon 1 polymorphism and early rheumatoid arthritis with autoimmune endocrinopathies. *Rheumatology (Oxford)* 41(2):180-3.
- Vang T, Congia M, Macis MD, Musumeci L, Orrú V, Zavattari P, Nika K, Tautz L, Taskén K, Cucca F, Mustelin T, Bottini N. 2005. Autoimmune-associated lymphoid tyrosine phosphatase is a gain-of-function variant. *Nat Genet* 37(12):1317-9.
- Velázquez-Cruz R, Orozco L, Espinosa-Rosales F, Carreño-Manjarrez R, Solís-Vallejo E, López-Lara ND, Ruiz-López IK, Rodríguez-Lozano AL, Estrada-Gil JK, Jiménez-Sánchez G, Baca V. 2007. Association of PDCD1 polymorphisms with childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Eur J Hum Genet* 15(3):336-41.
- Vignal C, Bansal AT, Balding DJ, Binks MH, Dickson MC, Montgomery DS, Wilson AG. 2009. Genetic association of the major histocompatibility complex with rheumatoid arthritis implicates two non-DRB1 loci. *Arthritis Rheum* 60(1):53-62.
- Weinberg AD, Wegmann KW, Funatake C, Whitham RH. 1999. Blocking OX-40/OX-40 ligand interaction in vitro and in vivo leads to decreased T cell function and amelioration of experimental allergic encephalomyelitis. *J Immunol* 162(3):1818-26.
- Willcocks LC, Lyons PA, Clatworthy MR, Robinson JI, Yang W, Newland SA, Plagnol V, McGovern NN, Condliffe AM, Chilvers ER, Adu D, Jolly EC, Watts R, Lau YL, Morgan AW, Nash G, Smith KG. 2008. Copy number of FCGR3B, which is associated with systemic lupus erythematosus, correlates with protein expression and immune complex uptake. *J Exp Med* 205(7):1573-82.
- Wilson AG, de Vries N, Pociot F, di Giovine FS, van der Putte LB, Duff GW. 1993. An allelic polymorphism within the human tumor necrosis factor alpha promoter region is strongly associated with HLA A1, B8, and DR3 alleles. *J Exp Med* 177(2):557-60.
- Wu YL, Hauptmann G, Viguier M, Yu CY. 2009. Molecular basis of complete complement C4 deficiency in two North-African families with systemic lupus erythematosus. *Genes Immun* 10(5):433-45.

- Yang W, Zhao M, Hirankarn N, Lau CS, Mok CC, Chan TM, Wong RW, Lee KW, Mok MY, Wong SN, Avihingsanon Y, Lin IO, Lee TL, Ho MH, Lee PP, Wong WH, Sham PC, Lau YL. 2009. ITGAM is associated with disease susceptibility and renal nephritis of systemic lupus erythematosus in Hong Kong Chinese and Thai. *Hum Mol Genet* 18(11):2063-70.
- Yeturu K, Utriainen T, Kemp GJ, Chandra N. 2010. An automated framework for understanding structural variations in the binding grooves of MHC class II molecules. *BMC Bioinformatics* 11(1):S55.
- Yokoyama K, Su IH, Tezuka T, Yasuda T, Mikoshiba K, Tarakhovsky A, Yamamoto T. 2002. BANK regulates BCR-induced calcium mobilization by promoting tyrosine phosphorylation of IP(3) receptor. *EMBO J* 21(1-2):83-92.
- Yoshioka T, Nakajima A, Akiba H, Ishiwata T, Asano G, Yoshino S, Yagita H, Okumura K. 2000. Contribution of OX40/OX40 ligand interaction to the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol* 30(10):2815-23.
- Zanelli E, Breedveld FC, de Vries RR. 2000. HLA association with autoimmune disease: a failure to protect? *Rheumatology* 39:1060-1066.
- Zerrahn J, Held W, Raulet DH. 1997. The MHC reactivity of the T cell repertoire prior to positive and negative selection. *Cell* 88(5):627-36.
- Zhang SL, Chabod J, Penforis A, Revirion D, Tiberghien P, Wendling D, Toussiot E. 2002. TAP1 and TAP2 gene polymorphism in rheumatoid arthritis in a population in eastern France. *Eur J Immunogenet* 29(3):241-9.
- Zhou XJ, Lu XL, Nath SK, Lv JC, Zhu SN, Yang HZ, Qin LX, Zhao MH, Su Y, Shen N, Li ZG, Zhang H. 2012. Gene-gene interaction of BLK, TNFSF4, TRAF1, TNFAIP3, and REL in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 64(1):222-31.
- Ziegler A, Müller CA, Böckmann RA, Uchanska-Ziegler B. 2009. Low-affinity peptides and T-cell selection. *Trends Immunol* 30(2):53-60.
- Zikherman J, Hermiston M, Steiner D, Hasegawa K, Chan A, Weiss A. 2009. PTPN22 deficiency cooperates with the CD45 E613R allele to break tolerance on a non-autoimmune background. *J Immunol* 182(7):4093-106.

Internetové zdroje:

Česká revmatologická společnost
<http://www.revmatologicka-spolecnost.cz>, staženo 5.3.2012
 Registr české revmatologické společnosti
<http://attra.registry.cz/>, staženo 5.3.2012
 European Bioinformatics Institute
<http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/stats.html>, staženo 15.2.2012
 National Center for Biotechnology Information, Gene database
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>, staženo 18.3.2012
 National Center for Biotechnology Information, SPN database
www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/index.html, staženo 20.2.2012
 Annual Reviews
<http://www.annualreviews.org/>, staženo 20.2.2012